Omaggio dell'A.

Prof. FRANCESCO SANFELICE

Tossine ed antitossine dei blastomiceti patogeni in rapporto alla etiologia ed alla cura dei tumori maligni ♣ ♣

(Con le tav. da VIII a XXIV).

Milano - Torino - Roma - Napoli
Unione Tipografico-Editrice Torinese. 1908 ♣ ♣ ♣ ♣ ♣ ♣

Istituto d'Igiene della Università di Messina

Tossine ed antitossine dei blastomiceti patogeni in rapporto alla etiologia ed alla cura dei tumori maligni

ricerche del prof. FRANCESCO SANFELICE.

(Con le tav. da VIII a XXIV).

I.

Stato attuale della quistione del cancro.

Uno degli argomenti più alacremente studiati in questi ultimi anni è senza dubbio la genesi dei tumori maligni. Si sono creati laboratori speciali per lo studio di questo importante argomento e si sono istituiti speciali Comitati nazionali ed internazionali allo scopo di discutere i risultati delle più importanti ricerche e proporre i mezzi opportuni per lo studio delle quistioni non ancora risolute. I lavori che si pubblicano ogni anno in questi Istituti speciali, insieme con quelli degli osservatori, i quali lavorano indipendentemente dai Comitati e dai Congressi, sono divenuti così numerosi, che in questi ultimi anni si è sentito il bisogno di creare giornali speciali, nei quali si tratta esclusivamente la quistione del cancro.

Quelli che lavorano intorno all'argomento possono distinguersi in tre categorie. Alla prima appartengono i morfologi puri, i quali se da una parte hanno reso, senza alcun dubbio, un grande servigio alla scienza, facendo conoscere la istogenesi di alcuni tumori maligni dell'uomo, dall'altra hanno avuto il torto di credere che la quistione del cancro poteva essere risoluta facendo centinaia e centinaia di sezioni di carcinomi, studiando la morfologia e la genesi degli elementi cellulari neoplastici dallo inizio della neoplasia fino alla completa evoluzione, trascurando la via sperimentale e sca-

gliandosi con tanta violenza contro tutti quelli, che in base ad esperimenti avevano sostenuta la genesi parassitaria dei tumori maligni, da negare loro perfino la capacità intellettuale di comprendere che cosa sia un cancro, che cosa sia un sarcoma.

Da parte di questi morfologi sono state messe innanzi delle teorie, con le quali si è creduto di spiegare la genesi del cancro, ma senza alcun fondamento, perchè anche quando abbiamo saputo che le cellule dell'organismo, le quali dànno origine ai tumori maligni, diventano anaplastiche o sono disorientate per la infiammazione avvenuta nel connettivo, ignoriamo del tutto l'agente etiologico della anaplasia e della infiammazione che ha prodotto poi il disorientamento degli elementi cellulari.

Oramai lo studio morfologico dei tumori maligni dell'uomo ha dato tutto quello che poteva dare. La morfologia potrà risolvere nuovi problemi, se sarà applicata a tutto quello che solamente la ricerca sperimentale può offrire, alla quale senza dubbio è riserbato di portare nuova luce intorno allo importante argomento.

Alla seconda categoria appartengono quegli osservatori che, pur non trascurando le ricerche morfologiche, hanno seguita la via sperimentale, trapiantando i tumori da un animale all'altro della stessa specie o di diversa specie, studiando tutte le condizioni di sviluppo delle cellule neoplastiche e cercando di risolvere il problema della immunità innata o acquisita contro lo attecchimento delle cellule trapiantate. In questi ultimi anni quasi tutti gli sperimentatori sono stati presi da una vera mania per procacciarsi un ratto o un topo con un tumore spontaneo, per iniziare la serie dei trapianti attraverso più generazioni, come se questo metodo di ricerca potesse far risolvere la questione.

Tutti questi esperimenti ci hanno insegnato ben poco e non hanno fatto per nulla progredire la quistione della etiologia dei tumori maligni. Anzi, a voler dire spassionatamente, i risultati di tutti questi trapianti di tumori da animale ad animale della stessa specie o di diversa specie, segnano un regresso nel cammino della importante quistione, perchè dalla maggior parte degli osservatori si tende ad elevare la cellula neoplastica al grado di agente etiologico delle neoplasie per sè stessa, senza lo intervento di un fattore esterno, ritornando così all'antico concetto del Cohnheim.

È pur bene passare brevemente a rassegna tutti questi lavori per mettere in evidenza i risultati delle ricerche e per dimostrare quanto essi siano di poco conto e quanto poco abbiano fatta progredire la quistione.

I primi tentativi fatti per riprodurre i tumori dell'uomo negli animali non diedero alcun risultato, perchè il tessuto di un animale non attecchisce su animali di specie diversa. Quei pochi risultati positivi descritti dal Dagonet e dal Werner sono spiegati dalla maggior parte degli osservatori come coincidenze. Bisognava quindi limitarsi a trapiantare tumori da animale ad animale della stessa specie. Al Nowinski (1) riuscì di trapiantare da cane a cane un carcinoma del naso. Al Wehr (2), al Geissler (3), allo Smith ed al Washburn (4) riuscì di trapiantare tumori dei genitali da cane a cane. Questi tumori erano linforsarcomi simili a quello trapiantato dallo Sticker attraverso parecchie generazioni di cani. L'Hanau (5) dimostrò per il primo che il carcinoma dei ratti può trapiantarsi con risultato positivo costante da individuo ad individuo. Si deve poi al Moreau (6) l'aver dimostrato per la prima volta che il carcinoma dei topi può trasmettersi attraverso numerose generazioni. In base ai risultati di questi esperimenti ebbero origine le ricerche sistematiche fatte in questi ultimi anni. Il Firket (7), il Velisch (8) ed il Loeb (9) trapiantarono un sarcoma della tiroide per 40 generazioni di ratti. Il tumore dei topi descritto da Jensen (10) e conosciuto da per tutto col nome dell'autore presentava la struttura di un carcinoma alveolare. Questo tumore riscontrato la prima volta nel topo bianco si dimostrò trapiantabile anche nel topo grigio. Seguirono alle ricerche di Jensen quelle del Borrel (11) del Michaelis (12) del Gaylord, Cloves e Baeslack (13), dell'Ehrlich (14), Bashford (15) ed altri. Questi tumori dei topi nella grande maggioranza dei casi si riscontrano nelle femine e solo eccezionalmente nei maschi. Questi tumori ordinariamente si presentano nel connettivo sottocutaneo, sono di volume considerevole, da superare alle volte il volume dell'animale ed il più delle volte mortali. Quanto alla natura istologica sono tumori epiteliali, i quali hanno origine dall'epitelio della glandola mammaria. Sono tumori che s'infiltrano poco nei tessuti vicini normali e dànno metastasi più raramente che i carcinomi dell'uomo. La maggior parte degli osservatori ritiene che questi tumori non si differenziano essenzialmente dai tumori dell'uomo. Che nella riproduzione di questi tumori si tratta di un trapianto nel vero senso della parola non vi è alcun dubbio. La percentuale dei risultati positivi dei trapianti varia assai. Mentre alcuni tumori dànno il 30 % di risultati positivi, altri dànno il 60, il 90 e perfino il 100 %.

---

(1) Centralblatt für die med. Wissenschaften. Vol. XIV. 1876.
(2) Archiv für klinische Chirurgie. Vol. 39. 1889.
(3) Ibidem. Vol. 46. 1893.
(4) British med. Journal. 1898.
(5) Fortschritte d. Med. Vol. 7. 1889.
(6) Compt. rend. de la Soc. de Biol. 1891.
(7) Bull. de l'Acad. royale de Belg. 1892.
(8) Wiener med. Blätter. 1898.
(9) Journal of med. research. 1901.
(10) Centralblatt f Bakt. 1903.
(11) Annales de l'Inst. Pasteur. 1903.
(12) Zeitschrift f. Krebsforschung. 1906-1907.
(13) Med. News. 1905.
(14) Arbeiten aus d. Inst, Frankfurt. 1906.
(15) Scientific reports of the cancer research. 1904 07.

Jensen ha cercato di spiegare perchè nelle sue ricerche il 50 % dei trapianti non diede risultato positivo. Dapprima egli credette potere ammettere una immunità naturale. In seguito osservò che gli animali inoculati con risultato negativo si mostravano resistenti anche se si ripetevano le inoculazioni ed ammise che in questi animali si potesse trattare di una immunità artificiale.

Dalle ricerche di Michaelis, Bashford, Borrel ed Haaland fu stabilito che il tumore studiato da Jensen attecchisce male o punto in altre razze di topi. In seguito furono superate tali difficoltà e si ottenne un buon numero di risultati positivi anche in altre razze di topi. Fu possibile quindi in determinati limiti un adattamento del tessuto neoplastico alle nuove condizioni di vita. Haaland stabilì che il sarcoma studiato da Ehrlich nelle diverse razze di topi dava i seguenti risultati:

In	128 topi di Berlino	97 %
»	143 topi di Amburgo	24 %
»	16 topi danesi	0 %
»	6 topi di Cristiania I	0 %
»	15 topi di Cristiania II.	50 %

Inoltre risultò che i topi di Berlino, i quali sono molto suscettibili, dopo un soggiorno di più mesi in Norvegia si mostravano quasi completamente resistenti nella stessa guisa dei topi giovani che erano stati allevati in Norvegia dagli stessi topi di Berlino. Da ciò conchiude l'autore innanzi citato che per spiegare la immunità naturale sono da considerare non solamente le proprietà speciali delle razze, ma anche alcune differenze labili, tra le quali in prima linea la mutata alimentazione. Altra condizione labile da considerare è la età in quanto che i topi vecchi sono meno suscettibili dei topi giovani.

Nelle ricerche di trapianto dei tumori dei topi ai ratti l'Ehrlich trovò che le cellule neoplastiche dei topi trapiantati nei ratti nei primi 6-8 giorni si sviluppano come nel topo e poi non si moltiplicano più e sono riassorbite. Non riuscì ad Ehrlich di trapiantare in altri ratti il tumore sviluppato nei ratti, ma gli riuscì di trapiantarlo nei topi, nei quali si sviluppò nel modo solito. Così l'autore per 14 generazioni ha potuto continuare le inoculazioni alternanti tra topo e ratto senza osservare una diminuzione nella energia di sviluppo delle cellule neoplastiche. I ratti, nei quali era avvenuto il riassorbimento del tumore, si dimostrarono resistenti alle ulteriori inoculazioni. Questi risultati potrebbero spiegarsi con le vedute del Ribbert, il quale nei trapianti di pezzi di cute umana e di cavia nel connettivo sottocutaneo dell'orecchio del coniglio avendo veduto che si sviluppavano nei primi giorni e poi andavano soggetti a metamorfosi regressive, ammise che lo sviluppo nei primi giorni era dovuto al consumo delle sostanze nutritive proprie e che, quando queste erano state consumate, doveva avvenire il riassorbimento, perchè non erano utilizzabili le sostanze nutritive dell'ospite. Ehrlich crede al contrario di potere spiegare il fatto con lo ammettere che nei ratti manchi una determinata sostanza nutritiva, la quale è indispensabile allo sviluppo rigoglioso delle cellule neoplastiche. Appunto per questa ragione la immunità naturale dei ratti fu di-

stinta dall'autore con l'appellativo di atreptica. Le conclusioni di Ehrlich furono contraddette da v Dungern e Werner, i quali credono piuttosto ad una immunità attiva da anticorpi. Le ricerche delle Sticker (1) confermano quanto i predetti autori hanno affermato. Infatti nello sviluppo del linfo-sarcoma prepuziale del cane lo Sticker distingue due fasi. Nella prima fase caratterizzata dalla mancanza delle metastasi una seconda inoculazione non attecchisce, se con un atto operativo non si allontana il tumore principale. Nella seconda fase caratterizzata dalla diffusione degli elementi neoplastici nell'organismo e dalla formazione di numerose metastasi, le inoculazioni riescono, anche se non sia stato tolto il tumore principale. Nella prima fase gli anticorpi sono in quantità sufficienti da impedire il nuovo attecchimento di cellule neoplastiche. Tolto il tumore principale viene ad essere tolto il focolaio produttore di antigeni e per conseguenza è possibile l'attecchimento delle cellule neoplastiche. La diffusione delle cellule neoplastiche nell'organismo e la consecutiva trasformazione delle metastasi segna l'esaurimento dell'organismo nella produzione di anticorpi ed il consecutivo possibile attecchimento delle inoculazioni.

Gaylord, Cloves e Bashford hanno trovato che le iniezioni dei tumori conferiscono agli animali la immunità sia nel caso che non dànno luogo alla formazione del tumore, sia che producono un piccolo tumore che in seguito si riassorbe. E' dimostrata quindi senza alcun dubbio una immunità attiva, la quale si manifesta già 14 giorni dopo la prima inoculazione e dura per settimane e mesi.

Le ricerche istituite per dimostrare se le cellule neoplastiche morte erano capaci oppur no di dare immunità, hanno dato risultato incerto o negativo. E' stato inoltre dimostrato che la natura del tumore non ha alcuna influenza sulla immunità, poichè un animale immunizzato con un dato tumore si mostra immune contro tumori di altra natura. Ciò che conferisce la immunità deve essere quindi qualche sostanza non intimamente legata al protoplasma delle cellule neoplastiche, un agente chimico, il quale si trova nello interno di esse e le stimola alla incessante moltiplicazione.

Quanto innanzi si è esposto non è punto in contraddizione con i risultati ottenuti da alcuni osservatori, i quali hanno voluto vedere se la immunità che si conferisce agli animali contro i tumori maligni è in rapporto con le cellule neoplastiche o si possa ottenere anche con cellule normali. Dalle ricerche fatte sembra che il sangue, la milza, il fegato dei ratti e dei topi normali possa conferire la immunità contro i tumori nello stesso modo delle cellule neoplastiche. Si sa infatti che analogamente a quanto succede per i tumori maligni, i succhi di alcuni organi normali sono capaci di conferire la immunità contro note infezioni. Certamente non si potrà negare la specificità del bacillo del carbonchio solamente perchè il succo della glandola timo degli animali normali è capace di immunizzare contro questa infezione. Non sappiamo ancora nulla sul meccanismo di azione della immunità ottenuta per mezzo degli organi normali. Quello che possiamo dire è che tale meccanismo deve essere affatto

(1) *Spontane und postoperative Implantations-tumoren*. Münchn. med. Wochenschr. 1906.

diverso da quello che si verifica in seguito alle inoculazioni delle cellule neoplastiche.

Alcuni autori si sono occupati di stabilire la natura della immunità ottenuta contro i tumori maligni, ma sono venuti a conclusione incerta. Innanzi tutto si è cercato di vedere se si tratta di una immunità del sangue che può essere trasmessa per mezzo del siero. Jensen inoculando ai conigli i tumori dei topi credette di ottenere un siero specifico ad azione curativa, ma i risultati delle sue ricerche furono incerti. L'Ehrlich sottomise la poltiglia dei tumori destinata alla inoculazione dei topi all'azione del siero di coniglio senza ottenere risultati positivi. Il Michaelis per preparare i conigli si servì oltre che dei tumori dei topi anche del loro sangue e spinse la immunizzazione dei conigli fino a che il siero di sangue acquistava potere emolitico per il sangue dei topi I risultati ottenuti dall'autore furono ugualmente negativi. Il Gaylord ed il Cloves osservarono che trattando i topi, che presentavano piccoli tumori, col siero degli stessi topi, si aveva rallentamento di sviluppo ed in alcuni casi guarigione, mentre il siero normale mostrava azione meno spiccata. Gli stessi autori dimostrarono anche che trattando la poltiglia dei tumori con il siero di animali guariti spontaneamente, si produceva una attenuazione nella energia di sviluppo delle cellule neoplastiche, mentre il siero normale era privo di azione. Il Michaelis (1) recentemente ha fatto delle ricerche sul siero dei topi bianchi che si erano dimostrati immuni a ripetute inoculazioni di cellule neoplastiche e sul siero dei topi grigi, nei quali la inoculazione di un tumore di un topo grigio aveva dato luogo alla formazione di un piccolo tumore che poi era scomparso. Dalle sue ricerche l'autore viene alla conclusione che il siero non ha potere citolitico ed agglutinante per le cellule cancerigne e che in questo siero non esistono anticorpi specifici. Anche il Gaylord ed il Cloves non trovarono nel siero di sangue dei topi guariti spontaneamente sostanze citolitiche ed emolitiche. Essi credono giustamente, secondo quanto innanzi ho esposto, che il siero curativo abbia azione non sulle cellule neoplastiche, ma su di un « virus » esistente nelle cellule.

Da tutte le ricerche su riferite abbiamo imparato che le cellule neoplastiche, nella stessa guisa che nell'individuo affetto da tumore, sono capaci di trapiantarsi negli organi e dar luogo a metastasi, possono anche continuare a moltiplicarsi, se trapiantate da un animale all'altro della stessa specie e che gli animali, i quali hanno superato la inoculazione si mostrano resistenti alle consecutive inoculazioni di tumori. Nulla di certo sappiamo finora sulla natura di questa immunità. Certo si è che seguendo questo indirizzo di ricerche difficilmente potrà risolversi la quistione della etiologia dei tumori maligni. Non è l'effetto, ma la causa che bisogna indagare, non sottoporre a ricerche le cellule, quando già hanno dato luogo alla

(1) Zeitschrift f. Krebsforschung. 1907.

formazione del tumore, ma ricercare gli agenti, i quali sono capaci di farle diventare neoplastiche. Solamente a questo modo si potrà venire a conclusioni certe. E se così scrivo, è perchè sono autorizzato a farlo in seguito ai risultati delle ricerche che esporrò nel presente lavoro.

Al terzo gruppo di osservatori, che studiano la quistione del cancro, appartengono i fautori della teoria parassitaria fondata sull'azione patogena dei blastomiceti. È una schiera di ben pochi lavoratori, se si vuole fare astrazione di quelli che pubblicando ricerche fatte con poco rigore scientifico hanno contribuito non poco a gettare il discredito sui lavori che meritano di essere considerati. Da tutte le ricerche fatte intorno all'azione patogena dei blastomiceti in rapporto alla quistione del cancro specialmente dal Leopold, dal Plimmer, da me e da altri è risultato che: 1° nei tumori maligni dell'uomo e degli animali si riscontrano saccaromiceti patogeni, alle volte capaci di essere coltivati artificialmente, alle volte non coltivabili, perchè trasformati in corpuscoli fucsinofili o di Russell per opera di un anticorpo che si forma nel siero di sangue dell'animale in preda alla infezione, il quale nella stessa guisa dei sieri batteriolitici, agisce sui saccaromiceti producendo in essi cromatolisi e cromatorressi; 2° nello interno dei tessuti i blastomiceti si presentano con tutte le forme che per lo innanzi furono ritenute come appartenenti a protozoi e non sono da confondere con le comuni inclusioni cellulari e con le comuni degenerazioni del protoplasma cellulare; 3° i saccaromiceti patogeni inoculati da soli possono con risultato non frequente, ma con una percentuale superiore a quella che si osserva nei tumori maligni sviluppati spontaneamente, dar luogo nei cani alla produzione di veri tumori maligni epiteliali e connettivali. Inoculati insieme coi loro prodotti dànno risultati positivi molto più frequenti, perchè le loro tossine stimolando gli elementi cellulari alla moltiplicazione atipica favoriscono la formazione del tumore. Anche inoculando da soli i prodotti solubili dei blastomiceti patogeni si hanno frequentemente risultati positivi.

I saccaromiceti patogeni possono quindi dare vere infezioni, nelle quali i parassiti sono molto numerosi e la reazione da parte del tessuto è molto scarsa (caso di Curtis nell'uomo, caso di Brazzola nel cavallo) ed intossicazioni, nelle quali la moltiplicazione cellulare è dovuta ad un prodotto solubile da essi elaborato. Tra la infezione limitata (pseudo-tumori) o diffusa (blastomicosi) e la intossicazione (veri tumori con scarso numero di parassiti coltivabili o senza parassiti coltivabili perchè trasformati in corpuscoli fucsi-

nofili) vi è il processo patologico prodotto dalla inoculazione dei parassiti insieme con le loro tossine, nel quale il numero dei parassiti è piuttosto scarso e la reazione da parte del tessuto piuttosto considerevole.

Come già accennai nei lavori pubblicati negli scorsi anni (1), le modalità, con le quali s'infettano sperimentalmente gli animali non corrispondono alle condizioni, in cui in natura avviene la infezione. Nella infezione naturale si ha la moltiplicazione dei parassiti in un determinato e limitato sito e la produzione locale di tossine che stimolano le cellule, in vicinanza delle quali si trovano i parassiti, alterandole nella forma e nella funzione e dando così luogo allo inizio della neoplasia. Nella infezione sperimentale invece si pongono a contatto di una vasta superficie cellulare parassiti e tossine già sviluppate *in vitro*. Il modo d'infettare gli animali che più si avvicina alla infezione naturale è quello di trapiantare nello addome degli animali piccoli pezzi di tumori sviluppati in animali della stessa specie in seguito alla inoculazione addominale di parassiti e tossine. Operando in questo modo si pongono a contatto di determinati gruppi cellulari parassiti in numero limitato e cellule stimolate dalle loro tossine. Si ha così l'azione limitata a pochi elementi cellulari nella stessa maniera, come avviene nella infezione naturale, evitando la diffusione nei tessuti dei parassiti e delle tossine, come quando s'inocula sia nella cavità addominale, sia nel connettivo sottocutaneo una coltura in un mezzo liquido.

Un fatto importante risultò dalle ricerche pubblicate nello scorso anno ed è che con la inoculazione delle tossine dei blastomiceti patogeni nella cavità addominale dei cani e dei ratti può non riscontrarsi nulla negli organi di questa cavità e trovarsi invece un tumore negli organi della cavita toracica. In altri termini, le tossine inoculate non esercitano la loro azione dannosa sulle cellule, con le quali in un primo momento vengono a contatto, ma su cellule distanti. Questo fatto indica che nell'organismo animale possono esservi elementi cellulari suscettibili all'azione delle tossine blastomicetiche, capaci cioè di fissarle ed elementi cellulari non suscettibili, incapaci cioè di fissarle e che le tossine prodotte in un dato sito dell'organismo possono esercitare la loro azione a distanza, là dove sono cellule capaci di risentirne l'azione

---

(1) *Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti in rapporto alla etiologia dei tumori maligni*. Prima serie di ricerche. Questi Annali d'Igiene sperimentale, 1907. *Sull'azione dei prodotti solubili dei blastomiceti in rapporto alla etiologia dei tumori maligni*. Seconda serie di ricerche. Id., id.

II.

Produzione di tumori nei cani e nei ratti con la inoculazione dei parassiti e delle tossine.

Quando cominciai a studiare l'azione patogena dei blastomiceti non dava alcuna importanza alle tossine, perchè da una serie di ricerche fatte nel 1896 mi ero convinto che i prodotti solubili elaborati dal *Saccharomyces neoformans* nel comune brodo di nutrizione inoculati anche in considerevole quantità nelle cavie e nei conigli non solo non producevano alcuna lesione, ma non erano capaci neanche di preservare gli animali dalla morte, se loro s'inoculava una piccola quantità della coltura virulenta. Per alcuni anni credetti che i saccaromiceti patogeni non fossero capaci di produrre tossine nei comuni substrati di nutrizione.

Or sono alcuni anni, praticando una serie di inoculazioni endotracheali nelle cavie e nei conigli, (1) mi avvidi che quando si inoculavano i soli parassiti, questi si moltiplicavano considerevolmente ed il tessuto dava scarsa reazione proliferativa, mentre quando si inoculavano i parassiti insieme con il substrato di nutrizione solido, su cui avevano vegetato, si otteneva una limitata moltiplicazione dei blastomiceti ed una considerevole proliferazione da parte degli elementi cellulari. Pensai allora che il risultato diverso stesse in rapporto con la esistenza di tossine contenute nel substrato di nutrizione solido. Così intrapresi lo studio dell'azione che i parassiti con le tossine e le tossine da sole sono capaci di esercitare nei comuni animali da esperimento. In due lavori precedenti ho esposto i risultati di queste ricerche, le quali furono eseguite con tossine contenute su substrati di nutrizione solidi, perchè non mi era riuscito di trovare dei liquidi, nei quali i blastomiceti avessero prodotto tossine molto attive. Ora per inoculare i substrati di nutrizione solidi era necessario sottoporli a triturazione, ciò che non era age vole, specialmente per il pericolo d'inquinamenti. Si aggiunga poi che la inoculazione negli animali di substrati solidi puranco finissimamente triturati rappresentava qualche cosa di estraneo al processo istopatologico che si iniziava per lo stimolo esercitato dai parassiti

(1) *Ueber die pathogene Wirkung der in die Trachea geimpften Blastomyceten.* Centralblatt f. Bakteriologie. 1906.

e dalle tossine. Da qui la necessità di trovare dei mezzi liquidi, nei quali sviluppandosi i blastomiceti, dessero luogo alla produzione di tossine molto attive. Questi liquidi, nei quali i blastomiceti producono tossine molto attive, sono stati trovati e se ne dirà in altro lavoro.

Qui mi interessa dire del modo come accertarsi della presenza nel liquido di coltura delle tossine e della loro maggiore o minore attività. A questo scopo servono molto bene i ratti bianchi. Inoculando nel connettivo sottocutaneo di questi animali i soli parassiti raccolti dalle patine sviluppatesi su agar o su patata si ha la morte degli animali dopo uno, due e più mesi, con la formazione di tumori più o meno grandi nel sito d'inoculazione e con lesioni considerevoli nelle glandole linfatiche, nel fegato, nei reni, nei polmoni e nel cervello. All'esame microscopico si vede che queste neoformazioni sono costituite più che dagli elementi cellulari dell'animale da grandissimo numero di parassiti (Fig. 3. Tav. XV). Si tratta quindi di pseudo-tumori e non di vere neoproduzioni cellulari. Con la inoculazione dei soli parassiti nella cavità addominale gli animali muoiono un po' più presto con lesioni spiccate, specialmente negli organi della cavità addominale. Si vedono neoformazioni, del colorito e della consistenza della carne dei selaci, nel fegato, nei reni, nella milza, nel grande omento, le quali all'esame microscopico si mostrano formate da un grande numero di parassiti con le comuni forme che sogliono presentare nei tessuti degli animali suscettibili.

Le sezioni delle neoformazioni prodotte con la inoculazione dei soli parassiti fanno la impressione come se i blastomiceti si fossero moltiplicati senza provocare la minima reazione da parte degli elementi cellulari. Si tratta quindi d'infezioni tipiche, di vere blastomicosi.

Se i parassiti s'inoculano insieme con le tossine elaborate *in vitro* nei liquidi di nutrizione, cambia del tutto il reperto anatomo-patologico. S'intende che nel fare queste inoculazioni bisogna servirsi di colture vecchie, nelle quali si sieno accumulate tossine in considerevole quantità, perchè se s'inoculano colture giovani, si ripetono i reperti delle infezioni con sola riproduzione di parassiti. Bisogna inoltre avere la precauzione, dopo aver fatta la semina, di chiudere i tubi alla fiamma. Le colture devono inoltre conservarsi al riparo della luce. Occorre tenere parecchi mesi alla temperatura ambiente di 14-16° C. questi liquidi di coltura, perchè avvenga la morte di tutti i parassiti; minore tempo occorre, se le colture si tengono alla temperatura di 37° C. Dopo 5-6 mesi che le colture sono state tenute

alla temperatura ambiente si può essere certi che si sono accumulate quantità sufficienti di tossine per dare la reazione neoplastica negli animali. In tutti i ratti morti in seguito alla inoculazione addominale di parassiti insieme con le tossine si ha una considerevole proliferazione da parte degli elementi cellulari ed uno scarso numero di parassiti.

La differenza dei risultati non può essere attribuita che alla presenza delle tossine nel materiale d'inoculazione. Per quanto maggiore è la reazione da parte del tessuto, per tanto più attiva deve considerarsi la tossina.

I nuovi liquidi di coltura contenenti parassiti e tossine sono stati sperimentati nella loro azione patogena nei cani e ratti bianchi. In alcune di queste culture i parassiti erano ancora vivi, in altre erano morti.

Un primo cane inoculato in addome è morto dopo 44 giorni in preda a considerevole dimagrimento, presentando alla sezione un tumore nel grande omento (fig. 3, tav. VIII) e numerosi noduli disseminati sul peritoneo parietale, alla superficie convessa della milza (fig. 4, tav. VIII), alla superficie superiore del fegato. Le glandole linfatiche erano un po' grosse; i reni ed i polmoni apparivano normali. Il tumore principale ha una struttura molto simile a quella descritta in altri cani nel lavoro precedente. La parte parenchimale (fig. 2, tav. IX) è costituita da formazioni rotondeggianti o ovoidali con cellule disposte ordinariamente a palizzata in senso radiale. Al centro di alcune di queste neoformazioni vi è una sostanza amorfa che si colora intensamente con l'orange, in mezzo alla quale vi sono granuli cromatici, provenienti dal disfacimento di alcuni elementi cellulari. Lo stroma è costituito da cellule connettivali allungate e da cellule con nucleo grunde vescicolare, con corpo protoplasmatico ampio, affatto simili a quelle delle formazioni rotondeggianti od ovoidali innanzi descritte. Le neoformazioni esistenti sul peritoneo parietale e sulla superficie della milza e del fegato hanno la stessa struttura del tumore principale. Nella milza, nel fegato e nei reni vi sono metastasi costituite da cellule simili a quelle del tumore principale.

Nelle metastasi esistenti nalla milza vi sono formazioni cistiche come quelle innanzi descritte. Nelle glandole linfatiche addominali non si sono riscontrate metastasi.

Un secondo cane, inoculato anche in addome come il precedente, è morto dopo 53 giorni con un reperto anatomo-patologico alquanto simile a quello innanzi descritto. Il tumore nel grande omento era più piccolo del precedente e la disseminazione delle neoformazioni sul peritoneo parietale, sulla superficie della milza (fig. 2, tav. VIII) e del fegato più considerevole. Il tumore del grande omento ed i noduli esistenti sulla superficie del fegato (fig. 1, tav. IX) e della milza avevano la stessa struttura delle neoformazioni riscontrate nel cane precedente. In questo secondo cane non vi erano metastasi nell'interno degli organi della cavità addominale.

Il terzo ed il quarto cane hanno presentato un reperto anatomo-patologico presso a poco identico. Il primo è morto dopo 40 giorni e nella milza aveva un tumore (fig. 1, tav. VIII) della grandezza di una nocciola. Negli altri organi non vi era alcuna lesione. Il secondo è morto dopo 5 mesi e 23 giorni ed alla sezione presentava la milza ricca di molti noduli, variamente grandi (fig. 5, tav. VIII). Negli altri organi non si osservava alcuna lesione. La struttura di questi tumori riscontrati nella milza corrisponde a quella descritta in un lavoro pubblicato alcuni anni or sono e che si può rilevare dalla figura 3 della tavola IX. Il tessuto di neoformazione non si distingue per la struttura da quella di un linfosarcoma. Gli elementi neoplastici sono costituiti da cellule con nucleo rotondo e con corpo cellulare non molto esteso, non dissimili dagli elementi linfoidi della milza normale. Tra questi elementi ve ne sono parecchi che mostrano figure cariocinetiche atipiche.

Il quinto cane è morto dopo 39 giorni ed alla sezione si è trovato un tumore grande, quanto una noce nel grande omento e piccoli noduli alla superficie della milza e del fegato. La struttura del tumore esistente nel grande epiploon è perfettamente simile a quella riscontrata in un cane morto 51 giorni dopo la inoculazione nell' addome di tossine ricavate da una coltura in patate di *Saccharomyces cani* e descritta nel lavoro precedente. Gli elementi cellulari che costituiscono il parenchima del tumore appartengono allo stesso tipo osservato nei tumori del grande omento degli altri cani, ma sono disposte alquanto diversamente, in gruppi ove più, ove meno estesi, separati dagli elementi stromali in forma di fibre connettivali con nuclei allungati (fig. 1, tav. X).

Il sesto cane è morto dopo un mese dalla praticata inoculazione addominale ed alla autopsia non ha mostrato altro che un tumore grande, quanto una noce nel lobo superiore destro del polmone. E' la ripetizione di un fatto già osservato negli anni precedenti, tanto nei cani, quanto nei ratti che, cioè, con la inoculazione delle tossine nella cavità addominale si sviluppano dei tumori nei polmoni. La struttura del tumore (fig. 4, tavola IX) è alveolare. In ogni alveolo si notano numerose estroflessioni ed introflessioni costituite nella parte centrale da connettivo e nella parte periferica da epitelio cilindrico ove in un solo strato, ove a più strati. Gli alveoli sono separati per mezzo di un tessuto connettivo, il quale costituisce lo stroma del tumore. Dalla osservazione della parte parenchimale del tessuto neoformato sembra risultare che le cellule cilindriche abbiano avuto origine dalle cellule di rivestimento degli alveoli polmonali. Il tessuto polmonale, che circonda la neoplasia appare del tutto normale.

Il settimo e l'ottavo cane sono morti in seguito alla inoculazione addominale, il primo dopo 3 mesi e 12 giorni, il secondo dopo 5 mssi e 27 giorni, mostrando alla sezione un tumore nel grande omento e nessuna lesione microscopica negli organi della cavità addominale e toracica. I tumori del grande epiploon erano per struttura identici a quelli innanzi descritti. Nelle sezioni dei polmoni vi erano numerosi noduli (fig. 2, tav X) costituiti dagli stessi elementi cellulari delle neoformazioni esistenti nello addome.

In conclusione si può dire che i risultati delle ricerche innanzi riferite confermano quanto nel precedente lavoro si era affermato,

che cioè l'azione delle tossine, stimolante gli elementi cellulari alla moltiplicazione ed alla formazione di neoplasie, può esplicarsi in sito ed a distanza. Nel primo caso le tossine sono venute al contatto di cellule capaci di fissarle; nel secondo caso, non essendovi, là ove si è fatta la inoculazione, elementi cellulari aventi tale proprietà, esse sono penetrate in circolo ed hanno trovato in altri siti le cellule suscettibili alla loro azione.

Ed ora riferirò i risultati ottenuti nei ratti con la inoculazione addominale delle colture contenenti parassiti vivi o morti e tossine.

I ratti inoculati con i liquidi di coltura sono stati quaranta e sono morti in un lasso di tempo oscillante fra i 25 giorni ed i 9 mesi. La importanza delle lesioni anatomo-patologiche non è in rapporto diretto con la maggiore durata della infezione. Alcune volte, negli animali morti dopo un mese, ho osservato lesioni più importanti che non negli animali morti dopo parecchi mesi.

Già innanzi ho detto che il reperto dovuto alla infezione blastomicetica, quantunque macroscopicamente si presenti alquanto simile, al microscopio è affatto diverso dal reperto dovuto alla intossicazione.

Nella infezione prodotta con la inoculazione dei soli parassiti senza le tossine, le neoformazioni sono costituite da accumuli considerevoli di parassiti, mentre nella intossicazione i parassiti sono scarsissimi o mancano del tutto, e la proliferazione degli elementi cellulari è considerevole. Nel primo caso si tratta di pseudotumori, nel secondo caso di vere neoplasie cellulari.

Esporrò ora i più importanti reperti anatomo-patologici osservati nei ratti.

Le lesioni più importanti si riscontrano nella cavità addominale. Alle volte si trova una sola massa neoplastica nel grande omento e piccoli noduli nel fegato e nei polmoni (fig. 3, tav. X); alle volte tutto l'addome è ripieno di masse neoplastiche di diversa grandezza (fig. 4, tav. X), le quali si giustapongono e si adattano fra le anse intestinali e gli organi addominali. In alcuni ratti ho osservato alla sezione masse neoplastiche piccole disseminate su tutto l'impianto del mesentere allo intestino tenue (figg. 1-2, tav. XI) con disseminazione di noduli di diversa grandezza alla superficie dei reni, della milza, del fegato, sulla faccia inferiore del diaframma, nei polmoni. In altri ratti il tumore del grande omento era costituito da un aggregato di piccole masse neoplastiche (fig. 3, tav. XI; fig. 1, tav. XII) con disseminazione di noduli o masse neoplastiche irregolari alla superficie del fegato (fig. 4, tav. XI) o alla superficie dei polmoni (fig. 1, tav. XII) o alla superficie dei reni (fig. 2, tav. XII).

Alla sezione i tumori principali appaiono della consistenza della carne dei selaci, mentre i pseudotumori quelli prodotti con la inoculazione dei

soli parassiti, sono molli, gelatinosi, di un colorito bianco-gialliccio. Alla sezione degli organi, come fegato, reni, polmoni, si vedono chiazze più o meno estese della stessa consistenza e dello stesso colorito dei tumori esistenti nel grande omento. Queste neoformazioni esistenti negli organi sono nettissimamente separate dal circostante tessuto sano mediante linee nette di demarcazione, contrariamente a quanto si osserva nei granulomi infettivi.

Le lesioni dei polmoni, ora ampie, ora limitate, sono costituite da una parte parenchimale e da una parte stromale. Il parenchima è formato da cellule a largo corpo protoplasmatico, con nuclei grandi vescicolari, con disposizione prevalentemente concentrica. Lo stroma è formato da cellule connettivali fusate, con nuclei allungati, ora più, ora meno ricco di elementi d'infiltrazione (fig. 1, tav. XIII; figg. 3-4, tav. XIV). Scarsissime sono le sezioni dei polmoni, nelle quali in mezzo agli elementi neoplastici ho riscontrato forme parassitarie (fig. 2, tav. XIII). Nella milza ora si riscontrano metastasi ampie e scarse (fig. 3, tav. XIII), ora piccole e numerose, Nelle sezioni dei reni si osservano metastasi nella sostanza corticale (fig. 4, tav. XV) ovvero alla superficie (fig. 2, tav. XV). Compresi nel tessuto neoformato costituente le metastasi renali si vedono canalini uriniferi, il cui epitelio ha una forma diversa da quello normale. I corpi cellulari sono più grandi e non si colorano con l'orange in giallo così intenso, come i corpi cellulari dell'epitelio normale. I nuclei sono più grandi di quelli normali. Le cellule inoltre sono più numerose e non sono disposte regolarmente come quelle dei canalini uriniferi normali. Quasi tutti i canalini uriniferi, che si trovano allo intorno della metastasi mostrano questa alterazione di forma e disposizione, cui certamente deve essere legata una alterazione funzionale. Le metastasi che si riscontrano nella spessezza del parenchima epatico o alla superficie sono identiche a quelle descritte negli altri organi. Nelle glandole linfatiche sottocutanee (fig. 1, tav. XIV), nelle glandole linfatiche addominali ed in quelle del mediastino (fig. 1, tav. XV; fig. 2, tav. XVI) si osservano molto frequentemente metastasi, molto raramente con qualche forma parassitaria (fig. 1, tav. XIV), il più delle volte senza parassiti. La struttura del tessuto, il quale forma queste lesioni negli organi, corrisponde a quella dei tumori principali del grande omento (fig. 4, tav. XIII; fig. 1, tav. XVI). Tanto nei tumori del grande omento, quanto nelle metastasi non sono rare le figure cariocinetiche atipiche. Nelle metastasi delle glandole linfatiche ho osservato cellule giganti a mieloplassi, con nuclei riuniti a corona nel centro di una ampia zona di protoplasma (fig. 2, tav. XVI). Queste forme di cellule giganti sono specialmente caratteristiche dei sarcomi e sono affatto diverse dalle cellule giganti da corpi estranei, come si riscontrano nei tubercoli e nelle gomme, nelle quali i nuclei giacciono alla periferia o ai due poli della cellula (tipo di Langhans).

In un ratto inoculato come i precedenti nella cavità addominale e morto dopo 50 giorni ho osservato un reperto che merita essere descritto a parte. Alla sezione non si riscontrarono lesioni nella cavità addominale. Nei polmoni vi erano neoformazioni nodulari, di colorito bianco-gialliccio, nettamente separate dal parenchima polmonale, le quali osservate al microscopio apparivano per struttura diverse da quelle innanzi descritte. Esse sono costituite (fig. 2, tav. XIV) da elementi placentari e da ele-

menti sinciziali in proliferazione con nuclei e corpi cellulari ampi in guisa da potersi facilmente distinguere dagli elementi cellulari normali dei polmoni. Intorno a questi elementi placentari vi sono elementi d'infiltrazione, dove più, dove meno abbondanti. E' noto che in condizioni fisiologiche si può avere il trasporto di cellule da un sito ad un altro dell'organismo, da un organo all'altro, alle volte seguìto da proliferazione cellulare in loco, senza però che queste cellule diano origine a tumori. Si sa inoltre dalle ricerche dello Schmorl che nei polmoni delle donne morte in gravidanza si riscontrano embolie di cellule placentari nei capillari con elementi di Langhans ed elementi sinciziali in proliferazione in modo da rassomigliare alle metastasi di un corioepitelioma. Nel caso descritto non si tratta di embolie capillari, ma di neoformazioni dovute alla fuoriuscita degli elementi placentari dai capillari. L'animale aveva partorito da più giorni e non presentava alcuna lesione nell'utero e negli organi della cavità addominale in modo da potere ritenere come metastasi le neoformazioni polmonali. Si deve quindi ammettere che le cellule placentari emigrate nei polmoni durante la gravidanza abbiano proliferato in seguito allo stimolo prodotto con la inoculazione della coltura nella cavità addominale. Questa osservazione, se confermata da altre, potrebbe spiegare la genesi dei corioepiteliomi ectopici. Le cellule coriali emigrate nei polmoni possono essere stimolate alla proliferazione dopo che è avvenuta la espulsione della placenta e prima che siano andate incontro ai processi di degenerazione.

In conclusione i risultati delle ricerche innanzi riferite confermano ciò che si era precedentemente osservato, che cioè le inoculazioni delle colture contenenti tossine di blastomiceti patogeni nei ratti dànno luogo ordinariamente alla produzione di neoplasie connettivali e consecutive metastasi negli organi addominali e toracici ed eccezionalmente non generano tumori nel sito ove è avvenuta la inoculazione, ma a distanza, ove si trovano elementi cellulari in speciali condizioni di suscettibilità.

III.

Risultati dei trapianti nei ratti.

Tutti gli autori che si sono occupati di trapiantare i tumori da animale ad animale della stessa specie tendono a considerare le cellule neoplastiche come dotate di proprietà speciali e come produttrici di neoplasie indipendentemente da qualunque azione di agenti esterni. Partendo da questo concetto si è studiata la resistenza di queste cellule agli agenti fisici e chimici, l'adattamento a vivere in animali di specie diverse e così via dicendo e si è fatto

un passo indietro ritornando alle antiche vedute, per le quali si considerava come un vero parassita la cellula cancerigna o sarcomatosa. In base ai risultati delle ricerche che ho innanzi riferite si deve invece ritenere che le cellule dell'organismo, sieno epiteliali, sieno connettivali, diventano capaci di produrre neoformazioni in seguito all'azione di uno stimolo chimico, una tossina prodotta da parassiti, la quale ha la proprietà di alterarne la forma e la funzione e di stimolarle alla riproduzione atipica. Una volta che una o più cellule sono state stimolate dalla tossina si riproducono incessantemente, perchè in esse persiste a lungo lo stimolo.

È a questo modo che si spiegano i trapianti dei tumori attraverso una numerosa serie di generazioni.

Per avvalorare il concetto innanzi esposto e che era risultato dalle esperienze di inoculazione delle colture dei blastomiceti patogeni contenenti le tossine, ho creduto necessario eseguire una serie di trapianti nei ratti con porzioni di tumori che si erano sviluppati nella cavità addominale.

Dalle recenti ricerche è risultato che nei trapianti dei carcinomi e dei sarcomi rimane inalterata una parte delle cellule del tumore trapiantato e da questa ha origine il nuovo tumore. Dal Bashford, dal Murray e dal Bowen (1) è stato osservato che sullo sviluppo dei tumori nei trapianti influisce innanzi tutto il passaggio da una razza all'altra di animali, l'età degli animali, il cambiamento del luogo d'innesto, la natura istologica del tessuto che si trapianta, le modificazioni, cui le cellule del tumore sono andate incontro.

La maggior parte dei tumori finora osservati nei ratti sono sarcomi. Il Firket riferisce su di un sarcoma a cellule fusate osservato in un ratto, sarcoma che egli potette riprodurre attraverso tre generazioni. Il Velich descrive un sarcoma che inoculò per otto generazioni e la cui infettività era così grande che bastò il semplice contatto per dar luogo alla formazione di un tumore. Recentemente Flexner e Jobling descrissero un sarcoma nei ratti dotato di grande potere infiltrante e capace di produrre metastasi. Questo tumore nei trapianti dava il 95 % di risultati positivi. Gli animali che avevano superato una inoculazione con materiale meno virulento si dimostravano immuni contro ulteriori inoculazioni. Il tumore dava metastasi specialmente nei polmoni. Il Loeb ha osservato nei ratti un sarcoma della tiroide a cellule rotonde, che si potette trapiantare attraverso 40 generazioni.

Lo stesso autore ha descritto negli stessi animali un tumore misto della tiroide, di cui i due componenti, adenocarcinoma e sarcoma fusocel-

---

(1) *Die experimentelle Analyse des Carcinomwachstums.* Zeitschrift f. Krebsforschung, vol. V, 1907.

lulare, potevano distinguersi ad occhio nudo. Dei due componenti solamente la parte sarcomatosa potette essere trapiantata. Anche Jensen ha trovato in un ratto un sarcoma fusocellulare, capace di essere trapiantato atttraverso più generazioni.

Solamente l'Hanau ed il Lewin hanno descritto dei carcinomi nei ratti. Nel caso del Lewin (1) si trattava di un carcinoma della mammella, che trapiantato attraverso 11 generazioni diede luogo alla produzione di adenocarcinomi, cancroidi, sarcomi fusocellulari, sarcomi a cellule giganti e combinazione di queste quattro forme di tumori. Nei trapianti la virulenza del tumore mostrò in generale tendenza ad aumentare. I ratti giovani si mostrarono più suscettibili degli adulti. Il riscaldamento per un quarto d'ora a 46°, per una mezz'ora a 39°, fino a 43°, non impedì l'attecchimento dei trapianti e neanche la permanenza per 18-48 ore nel ghiaccio. Nei ratti, in cui il tumore si era sviluppato fino ad un certo volume, si osservò la regressione spontanea e la consecutiva immunità acquisita contro le inoculazioni di adenocarcinomi, cancroidi e sarcomi.

Contrariamente a quanto aveva affermato l'Ehrlich, il Lewin vide che nei ratti in cui aveva attecchito il trapianto, riusciva la inoculazione una seconda volta.

Assodato il fatto da quanto innanzi si è esposto, che i ratti vanno facilmente soggetti a contrarre tumori maligni, i quali si possono facimente trapiantare da animale ad animale, era certamente interessante vedere come si comportavano nei trapianti le neoplasie in essi prodotte con la inoculazione addominale delle colture dei blastomiceti patogeni. Questa serie di ricerche presentava un interesse superiore a quello dei trapianti dei tumori spontanei, per la ragione che il punto di partenza era rappresentato da uno stimolo noto.

I tumori addominali dei ratti, i quali alla sezione hanno presentato un reperto anatomo-patologico molto importante, sono stati utilizzati per gli esperimenti di trapianto. Sono state eseguite 13 serie di trapianti ed ogni serie ha avuto origine da piccole porzioni dei tumori addominali. Per ogni serie si sono avute finora 3, 4, 5 generazioni.

La tecnica più facile e rapida consisteva nello introdurre nello addome un grosso trequarti con relativa cannula attraverso la cute e le pareti muscolari e nello spingere poi nella cannula liberata dal trequarti un piccolo pezzo di tumore. In tutti i trapianti così operati non ho avuto a lamentare il minimo inconveniente.

Le lesioni istologiche ottenute coi trapianti nei ratti, sono più importanti di quelle che si osservano con la inoculazione delle colture. Le cellule neoplastiche senza dubbio acquistano un maggiore

(1) *Experimentelle Beiträge zur Morphologie und Biologie bösartiger Geschwülste bei Ratten und Mäusen.* Zeitschrift f. Krebsforschung, vol. VI.

potere di riproduzione ed assumono una individualità più spiccata. Questa è la più importante conclusione che si può trarre da tutti gli esperimenti di trapianto che finora ho eseguito.

Le alterazioni anatomo-patologiche che si osservano nei ratti, in cui è avvenuto il trapianto, sono identiche a quelle che innanzi ho descritte. Alle volte si ha localizzazione del tumore principale nel grande omento con o senza notevole diffusione a tutta la cavità addominale (fig. 3, tav. XII), alle volte non si osserva nulla nella cavità addominale e si notano numerose neoformazioni nei polmoni (fig. 4 e 5, tav. XII) ripetendosi il fatto già osservato altre volte.

Nessun rapporto vi è tra la importanza delle lesioni e la durata della malattia.

Degli animali che muoiono dopo 40-50 giorni presentano lesioni più estese di quelli che muoiono dopo più mesi.

Bisogna tener conto che nella genesi dei tumori maligni, come in tutte le malattie da infezione, non poca influenza ha il soggetto, nel quale ha luogo la infezione. Con la maggiore o minore predisposizione dell'individuo cambia la importanza e la durata della affezione.

Riferirò ora una serie di trapianti tra i più notevoli.

Un primo ratto inoculato in addome con un piccolo pezzo di tumore di un altro ratto inoculato con la coltura muore dopo 4 mesi e 8 giorni, presentando un tumore nel grande omento, bernoccoluto, non molto ampio, noduli scarsi nel rene sinistro, qualche nodulo sulla superficie del fegato e neoformazioni nodulari nei polmoni. Mentre il tumore principale mostrava la stessa struttura dei tumori osservati nei ratti inoculati con la coltura, le neoformazioni dei polmoni (fig. 3, tav. XVI) e del fegato (fig. 4, tav. XVI) erano alquanto diverse.

Le cellule che costituivano queste lesioni erano più numerose, più strettamente avvicinate le une alle altre e disposte a gruppi separati da tessuto connettivo, ove più, ove meno infiltrato.

Con piccoli pezzi dei tumori addominali di questo ratto s'inocularono in addome altri due ratti. Il primo di questi morì dopo 58 giorni, il secondo dopo 62 giorni e presentarono alla sezione scarsi noduli nel grande omento e lesioni importanti nei polmoni (fig. 4, 5, tav. XII) sotto forma di noduli di varia grandezza ugualmente distribuiti alla superficie e nel parenchima.

Nelle lesioni polmonali appare chiaro come le cellule neoplastiche hanno acquistato un aspetto più caratteristico di quello osservato nei ratti precedenti. Nell'insieme il tessuto neoplastico ha una struttura meglio definita che non negli animali precedenti.

Gli elementi cellulari parenchimali (fig. 1, 2, tav. XVII) aventi nuclei vescicolari, ricchi di sostanza cromatica e corpi cellulari ampi sono disposti a gruppi o zolle separate da scarsi elementi stromali. Verso la periferia delle neoformazioni il tessuto neoplastico tende ad infiltrare il tessuto

sano (fig. 3, tav XVII) sotto forma di cordoni neoplastici, in guisa da fare la impressione come se le cellule, penetrate in spazi lacunari linfatici, li avessero riempiti completamente. In alcune sezioni si vedono le pareti dei piccoli bronchi e dei vasi sanguigni attraversate dalle cellule neoformate, le quali, penetrate nel lume, tendono ad invaderlo quasi del tutto. Da ciò si spiega la presenza di emboli e trombi neoplastici in alcune vene (fig. 4, tav. XVII). Con la usura delle pareti vasali si spiegano i versamenti ematici che qua e là presenta il tessuto neoformato.

Con piccoli pezzi delle neoformazioni polmonari si fecero trapianti in altri due ratti, il primo dei quali morì dopo 48 giorni ed il secondo dopo 37. I reperti anatomo-patologici osservati in questi due animali furono presso a poco identici a quelli innanzi descritti. Il tessuto neoplastico aveva conservato la stessa struttura. Nelle altre serie di trapianti ho confermato le osservazioni innanzi riferite. Finora non si è osservato alcun cambiamento nella natura istologica del tumore.

In conclusione, dai risultati delle ricerche innanzi riferite si deduce che con la inoculazione adddominale delle colture dei blastomiceti patogeni nei ratti si producono ordinariamente tumori connettivali (endoteliomi) del grande omento, con formazione di metastasi negli organi e solo eccezionalmente tumori a distanza e che trapiantando da ratto a ratto queste neoformazioni si ha attecchimento delle cellule neoplastiche con produzione di tumori connettivali a struttura più evoluta, perchè con questa maniera d'inoculazione si realizzano meglio le condizioni, nelle quali avviene la infezione spontanea.

IV.

Sul potere antigeno delle colture dei blastomiceti patogeni.

Dopo avere assodata la esistenza delle tossine nelle culture dei blastomiceti patogeni era interessante vedere se, inoculate negli animali in dose considerevole e per lungo tempo, avessero la proprietà di determinare nel sanguo degli animali la formazione di anticorpi specifici.

Le tossine dei blastomiceti patogeni, come in genere le tossine conosciute di alcuni microrganismi sono molto sensibili agli agenti esterni, come calore, luce, ossigeno atmosferico ed altri agenti ossidanti. Alla temperatura di 45° C. sono distrutte molto lentamente, più rapidamente ad una temperatura di 75° - 80° C. Il calore secco è da esse sopportato meglio del calore umido. Per difendere le colture in mezzi liquidi dall'azione dannosa dell'ossigeno bisogna chiudere alla fiamma i recipienti di vetro, che le contengono.

Per difenderle dall'azione dannosa della luce si conservano al buio in speciali armadi di legno, nei quali la temperatura si mantiene tra i 10° C ed i 14° C. Condizionate le colture a questa maniera si conservano tanto tempo, quanto è necessario per ottenere la morte dei parassiti. Prima di procedere alle inoculazioni del liquido contenente le tossine bisogna fare dei trapianti per essere sicuri che i parassiti sono morti. Le colture nei mezzi liquidi ed i parassiti morti s'inoculano *in toto* nel connettivo sottocutaneo degli animali per avere siero, il quale abbia nello stesso tempo potere battericida e potere antitossico.

Come animali produttori di siero ho scelto i cani grossi, del peso oscillante fra i 14 ed i 18 chili. Prima di incominciare le inoculazioni si tenevano gli animali in osservazione per alcuni giorni tenendo esatto conto del peso e della temperatura rettale.

L'alimentazione consisteva esclusivamente di due abbondanti razioni giornaliere di pane.

Quanto ai metodi di preparazione è da osservare che alcuni immunizzatori cominciano dallo inoculare piccole dosi di tossine e poi inoculano grandi dosi a lunghi intervalli, altri invece inoculano sempre piccole dosi a brevi intervalli. Il Wedrigailow chiama eroico il primo metodo, conservativo il secondo.

Recentemente si è assodato che la preparazione degli animali con piccole dosi a brevi intervalli fornisce più rapidamente e più sicuramente sieri ad alto valore curativo.

Per la preparazione dei cani ho seguito il metodo conservativo.

Le prime inoculazioni nel connettivo sottocutaneo dànno scarsissima reazione locale. In seguito non si verifica nulla là dove si pratica la iniezione. Mentre prima si dava gran peso alla reazione che presentava l'animale dopo ogni iniezione, oggi si sa che la formazione degli anticorpi non sta in alcun rapporto quantitativo con la reazione locale sorta dopo la iniezione della coltura. Una grave malattia reattiva può indebolire l'organismo anche nella produzione degli anticorpi. Da principio è da consigliare di inoculare mescolate la tossina con l'antitossina, perchè così si evita la possibile azione dannosa del siero di cane e si può arrivare rapidamente ad ottenere un siero di alto valore curativo (1).

Dopo le prime iniezioni di tossina si verifica costantemente un

---

(1) Sul metodo di attenuazione delle tossine necessario ad essere applicato nelle prime inoculazioni che si praticano nei cani che si vogliono preparare, si dirà in altro lavoro.

periodo di latenza che va fino al 9°, 10°, 14° giorno; poi comincia ad aumentare il contenuto in antitossina fino ad un massimo che è raggiunto dopo il terzo mese. Quando si è raggiuto il massimo quantitativo di antitossina anche continuando a praticare iniezioni non si verifica alcuno aumento. Sicchè è consigliabile dopo un periodo di tre mesi raccogliere tutto il sangue dalla carotide o dalla femorale. Al siero limpido si aggiunge il 0, 5 % di acido fenico e si conserva in boccette di vetro scuro, al riparo della luce ed a bassa temperatura.

Dopo le prime inoculazioni di tossina alle volte si osserva un leggiero aumento della temperatura rettale, alle volte un aumento sensibile. Leggiere oscillazioni del peso si sono notate negli animali in preparazione così come negli animali non trattati, in modo da non poter dire con certezza se erano oppur no dovute alle inoculazioni della tossina. L'esame del sangue ripetuto più volte dopo le prime inoculazioni ha dimostrato un lieve grado di iperleucocitosi.

Analogamente a quanto sappiamo intorno alla produzione delle altre antitossine, si deve ammettere che la tossina dei blastomiceti patogeni si unisce a parti costituenti delle cellule (ricettori) e che le cellule reagiscono con una iperproduzione di queste parti costitutive specifiche. I ricettori lasciati liberi dalle cellule nel plasma sanguigno sono capaci di fissare la tossina di nuovo inoculata nell'organismo prima che arrivi ai ricettori legati alle cellule alterandole nella funzione e nella vita.

Non si conosce ancora quali cellule dell'organismo sieno capaci di segregare l'antitossina. Alcuni osservatori ritengono che alla produzione dell'antitossina contribuiscono specialmente gli organi ematapoietici. Secondo il Dziergowsky la formazione dell'antitossina ha luogo esclusivamente nel sito ove si è inoculata la tossina.

Il Brunton ed il Bokenham trovarono che il fegato contribuisce alla produzione della antitossina tanto che se ne trova anche nella bile. Certo è che, ovunque si formi, l'antitossina è segregata nel plasma sanguigno e nel latte.

Prima si credeva che il siero antitossico esplicando la propria azione immunizzante trovasse nell'organismo dell'animale un aiuto. In seguito si riconobbe che si tratta di una azione diretta dell'antitossina, determinata dalla affinità di questa colla tossina corrispondente, mentre l'organismo animale non prende alcuna parte a tale azione. Sicchè la idea primitiva di Behring, secondo la quale la tossina sarebbe neutralizzata direttamente dalla antitossina si può

ritenere oggi come la più giusta. Che anche nella neutralizzazione del veleno nell'organismo vivente si tratti di azione diretta, è dimostrato nel modo più chiaro dal fatto che l'antitossina agisce meglio quando si inietta, contemporaneamente e nello stesso posto, colla tossina; l'effetto è minore quando si fa precedere la iniezione di antitossina.

Il Römer dimostrò che portando contemporaneamente nel sacco congiuntivale l'abrina e l'antiabrina, l'abrina non produce nella congiuntiva del coniglio alcuna infiammazione, mentre invece si ha infiammazione, quando l'antiabrina è stata applicata precedentemente.

Per saggiare il potere battericida ed antitossico del siero nei cani preparati con le colture in mezzi liquidi dei blastomiceti patogeni contenenti parassiti morti e tossine, bisogna usare i ratti del peso medio di 200 grammi, perchè questi sono gli animali più suscettibili, tanto nell'azione dei soli parassiti, quanto all'azione combinata dei parassiti e delle tossine.

Non si può stabilire con precisione la dose minima mortale di una coltura in mezzi liquidi di blastomiceti patogeni conservata in tubo chiuso alla fiamma per un paio di mesi alla temperatura ambiente.

Quello che si può affermare con certezza si è che basta anche una goccia di questa coltura inoculata con liquido fisiologico nello addome di un ratto per ucciderlo dopo un tempo che varia dai 25 ai 30, ai 60 e più giorni. Ora se un ratto del peso di 200 grammi inoculato nella cavità addominale con un miscuglio di un decimo di centrimetro cubico di siero ed un centimetro cubico di coltura, sopravvive alla inoculazione, vuol dire che il siero ha un alto valore curativo.

Il siero allora può essere adoperato con efficacia nella cura dei tumori maligni dei cani quando 1/10 di cmc. è capace di neutralizzare dieci volte la dose certamente mortale di coltura contenente parassiti vivi e tossina.

Col siero dei cani preparati si possono salvare anche i ratti, nei quali la infezione sola o la infezione e la intossicazione è in atto, purchè la cura non si cominci troppo tardi. La tossina una volta legata stabilmente alle cellule non si lascia più staccare dalla antitossina. Nella infezione ed intossicazione blastomicetica di antica data è possibile che la tossina sia così fortemente legata alle cellule neoplastiche, che non si lasci più neutralizzare dalla antitossina. Con la sieroterapia si deve intervenire al più presto possibile dopo

avvenuta la infezione o la intossicazione. Il Dönitz dimostrò che la dose che basta ad ottenere la neutralizzazione *in vitro* non è sufficiente a guarire gli animali, se il siero si applica immediatamente dopo la iniezione della tossina tetanica. Sette minuti dopo la iniezione del veleno si ottiene ancora la guarigione col multiplo della dose di antitossina che basta per la neutralizzazione *in vitro*; ma non più dopo 15 minuti. Dopo 15 minuti dalla introduzione di 7 dosi mortali di tossina difterica, la dose di veleno semplicemente letale è già legata dai tessuti; un tempo ancora minore occorre perchè questi tessuti sensibili leghino la dose letale, quando se ne introduca una quantità corrispondente a 60 volte la dose letale; infatti già 2 minuti dopo la introduzione della tossina la morte dell'animale non può più essere impedita nemmeno per mezzo di quantità di antitossina, che sarebbero bastate a neutralizzare *in vitro* delle dosi di veleno ancora più grandi.

In conclusione si può affermare che in seguito alle inoculazioni sottocutanee ripetute a brevi intervalli delle colture in mezzi liquidi dai blastomiceti patogeni contenenti parassiti morti e tossine si ottiene dai cani un siero dotato di potere battericida ed antitossico, il quale nella quantità di 0.1 cmc. impedisce l'azione infettiva e tossica che è capace di esercitare il decuplo della dose certamente mortale della coltura.

V.

La sieroterapia dei tumori maligni.

Dopo avere osservato che il siero dei cani trattati con le culture dei blastomiceti patogeni contenenti parassiti morti e tossine era dotato di potere battericida e di potere antitossico, bisognava necessariamente studiare l'azione che era capace di esercitare nei cani che presentavano tumori maligni.

Non vi è alcun dubbio che i cani vanno soggetti a contrarre tumori maligni per decorso e per struttura identici a quelli dell'uomo.

Osservazioni importanti sulla frequenza dei tumori maligni nei cani dobbiamo al Froehner, il quale ha utilizzato il ricco materiale della scuola veterinaria di Berlino negli anni 1886-1894. Le neoplasie maligne costituiscono quasi il 5 % di tutte le malattie dei cani. Sopro 643 tumori 40 % erano cancri, 13 % fibromi, 10 % papillomi, 7 % sarcomi.

Sono già molti anni che è stata tentata la cura dei tumori maligni nell'uomo.

Innanzi tuttto si è studiato l'azione curativa della eresipela su di alcune neoformazioni maligne. I primi tre casi furono pubblicati dal Busch nel 1866-68 dopo che era già stata constatata la influenza benefica della erisipela su di alcune affezioni lupose e sifilitiche. In seguito il Fehleisen praticò nello stesso senso inoculazioni metodiche con colture dello streptococco della eresipela ed ebbe risultati non del tutto negativi.

Così come di solito avviene nella cura chirurgica dei tumori maligni, non si sa nulla sul destino ulteriore di questi casi curati.

Non si può certamente negare che una benefica influenza si è accertata specialmente nei sarcomi, sia che la erisipela si fosse manifestata nella sede del tumore, sia in lontananza. Sembrerebbe quindi doversi ammettere non solamente un'azione locale, ma anche un'azione generale. E' inoltre importante ricordare che anche in altre malattie infettive si è osservata una regressione dei tumori, così per esempio dal Fischer (1) fu osservata la regressione di un gozzo nel corso di una scarlattina, dal Plenio (2) la guarigione di un melanosarcoma operato in modo non completo sotto la influenza di una piemia avente origine dalla ferita.

E' probabile che per il riassorbimento dello essudato infiammatorio avvenga una auto immunizzazione. Inoltre è da domandarsi se l'azione della eresipela è da identificarsi con una azione tossica e se le tossine elaborate nell'organismo dallo streptococco della eresipela sieno nello stato di esercitare una influenza sui tumori. Il Lassar, (3) lo Spronck (4) e più tardi il Coley (5) si servirono delle tossine elaborate *in vitro* da alcuni streptococchi. L'Emmerich e lo Scholl (6) si servirono di un siero preparato con gli streptococchi della eresipela.

Il Coley usò le tossine dello streptococco della eresipela in parte sole, in parte mescolate con quelle del bacillo prodigioso e riferisce dei risultati positivi osservati nei sarcomi. Il Friedrich non confermò l'effetto benefico di queste tossine. Il Petersen (7) non ebbe alcun risultato positivo nei carcinomi e risultati incerti sui sarcomi, L'Emmerich e lo Scholl utilizzarono il siero di pecore che erano state trattate con dosi elevate di colture degli streptococchi della eresipela. Con questo siero finora non si sono ottenuti risultati positivi. Delle ricerche di Bra, di Wlaëff, di Doyen e di altri è inutile parlare perchè mancano di qualunque base scientifica.

In conclusione possiamo dire che tutti questi tentativi di immunità e di cura dei tumori maligni sono interamente falliti e non poteva essere altrimenti perchè fondati sull'empirismo.

---

(1) Zeitschrift für Chirurgie. 1879.
(2) Archiv. f. kl. Chirurgie. Vol. 84.
(3) Deutsche med. Wochenschr. 1891.
(4) Annales Inst. Pasteur. 1892.
(5) The American Journal of med. Sciences. 1894.
(6) Deutsche med. Wochenschrift. 1895.
(7) Beiträge zur klin. Chirurgie. Vol. XVII.

Oltre che con i metodi sopra esposti si è cercato di ottenere la guarigione dei tumori maligni utilizzando la sostanza stessa del tumore.

Alcuni osservatori hanno pensato ad una azione specifica esercitata nel tessuto da presupposti parassiti, altri invece hanno creduto che la cellula carcinomatosa o sarcomatosa era da porsi al posto del presunto parassita ed hanno cercato di risolvere la quistione se era possibile ottenere una immunità cellulare.

Il Richet e l'Héricourt (1) inocularono nei cani e negli asini il succo dei tumori maligni ottenuto con la pressione e si servirono del siero degli animali immunizzati per il trattamento delle neoplasie maligne. Si trattrattava quindi di una immunità passiva. Gli autori credettero di avere ottenuta la guarigione di un fibrosarcoma, ma poi si vide che si era trattato di un miglioramento, ma non di una completa guarigione.

L'Engel (2) usò il siero di sangue dei carcinomatosi per immunizzare i conigli ed il siero di questi per il trattamento dell'ammalato, senza alcun risultato positivo.

Il Loeffler (3) sottopose il materiale carcinomatoso a gradi elevati di temperatura e lo inoculò ad un asino. Il siero ricavato dall'asino fu inoculato ad una donna affetta da carcinoma inoperabile della mammella senza alcun risultato.

Incerti come i risultati delle ricerche intorno alla cura dei tumori maligni sono i casi di guarigione spontanea. Lasciando da parte ciò che è riferito nella letteratura intorno alla guarigione spontanea dei tumori benigni, vediamo ciò che si sa intorno ai tumori maligni.

L'Eisemenenger (4) avrebbe osservata la regressione dei sarcomi delle cavità nasali.

Siccome questi tumori sono più vicini ai fibromi, che ai sarcomi, le osservazioni dell'autore hanno poco valore.

Lo Czerny (5) riferisce la osservazione di un sarcoma del mascellare superiore che dopo una operazione incompleta guarì spontaneamente. Un caso simile occorse al Reichel (6). Trattandosi di tumori connettivali nasce il dubbio che invece di sarcomi si trattava di tumori d'infiammazione.

Quanto ai tumori epiteliali è da riferire innanzi tutto la osservazione di Pearce Gould (7). Si trattava di un carcinoma della mammella, di cui la diagnosi fu accertata con l'esame microscopico. La donna fu operata la prima volta nel 1885 e per recidive nel 1892 e nel 1894. Un anno dopo

---

(1) Compt. rend. de la Soc. de Biologie. 1895-1900.
(2) Deutsche med. Wochenschrift. 1903.
(3) Deutsche med. Wochenschrift. 1904.
(4) Wiener klin. Wochenschr. 1893.
(5) Zeitschrift f. Krebsforschung. 1907.
(6) Chemnitzer med. Gesellsch. 1902.
(7) Clinical Society's Transactions. Vol. 30.

l'ultima operazione ebbe altra recidiva con estese metastasi glandolari. Fu giudicata inoperabile e guarì spontaneamente.

Un altro caso è riferito dallo Czerny (1) Si trattava di un carcinoma del colon che, cinque anni dopo una operazione incompleta, guarì spontaneamente,

Molto noto è il caso descritto dal Rotter (2). Nel 1895 una donna di 31 anni fu operata di adenoma maligno del retto e la diagnosi istologica fu fatta dall'Orth. Dopo due recidive la donna fu dichiarata inguaribile. Dopo pochi mesi non vi era più traccia di tumore nella cicatrice.

Il Petersen (3) riferisce un caso di *carcinoma ventriculi* operato dal Beck, in cui furono osservate metastasi nelle glandole linfatiche. Di queste alcune furono estirpate, altre rimasero in sito. Alla morte del paziente avvenuta 3 anni dopo le glandole linfatiche furono trovate normali.

Si trovano inoltre citati nella letteratura dei casi di guarigione di corioepiteliomi, ma nasce il dubbio che si fosse trattato di mole infiltranti e non di veri corioepiteliomi.

Oltre che nell'uomo, anche nei topi è stata osservata la guarigione spontanea dei tumori.

E' accertato oramai che i tumori di questi animali, anche se hanno raggiunta una considerevole grandezza, possono regredire. Tali osservazioni sono state fatte dal Loeb, dallo Sticker, dal Michaelis e da altri.

Il processo della guarigione spontanea parziale o totale dei tumori è stato studiato molto accuratamente dal punto di vista istologico. Nei processi neoplastici epiteliali o endoteliali della cute avviene una calcificazione del connettivo con formazione di vero tessuto osseo e con calcificazione degli alveoli epiteliali.

Di grande interesse sono inoltre i processi istologici di atrofia e di organizzazione degli alveoli cancerigni in alcuni carcinomi epiteliali, che sono stati spiegati dal Becher (4) nel senso di una guarigione spontanea. L'autore in parecchi casi di carcinomi epiteliali osservò la distruzione e la organizzazione delle perle con la formazione di cellule giganti e con lo sviluppo di tessuto connettivale giovane ed espresse la opinione che in questi processi si dovesse vedere una parziale guarigione. Anche il Petersen (5) specialmente nelle metastasi dei carcinomi descrisse speciali processi di riassorbimento degli elementi neoplastici con formazione di cellule giganti, come espressione di una guarigione spontanea. Altri osservatori non divisero queste opinioni considerando le cellule giganti come espressione di organizzazione di *caput mortuum.*

Lo Schmidt (6) trovò nelle metastasi polmonali di carcinomi gastrici molteplici metamorfosi regressive e descrive la organizzazione connettivale quasi completa di un embolo cancerigno nel polmone.

---

(1) Zeitschrift f. Krebsforschung. 1907.
(2) Archiv. f. klin. Chirurgie. Vol. LVIII.
(3) Beiträge zur klin. Chirurgie. Vol. 43.
(4) Virchow's Archiv. Vol. 156.
(5) Beiträge zur klin. Chirurgie. Vol. 32.
(6) Verhandl. Naturforschergesellsch. 1897.

In rapporto alla guarigione dei tumori è da tenere presente anche il fatto che gli organi non sono predisposti nella stessa maniera alla formazione delle metastasi e che i singoli carcinomi presentano predilezioni speciali per la formazione delle metastasi.

Il Ribbert (1) ha dimostrato che in seguito a carcinomi primitivi della mammella o in seguito a melanosarcomi della cute si riscontrano metastasi solamente nel fegato, mentre non se ne trovano nella milza, nereni, nel pancreas. La milza ordinariamente è esente da metastasi, ciò che è stato spiegato da alcuni con lo ammettere che le cellule carcinomatose nella milza vanno incontro alla distruzione più facilmente che negli altri organi.

Mentre alcuni organi presentano difficilmente metastasi, altri le presentano con una certa frequenza. Così il carcinoma della prostata ha una spiccata tendenza a dare metastasi nel sistema osseo. Da questi fatti si trae la conclusione che alcuni organi rappresentano un terreno favorevole per lo sviluppo dei tumori, mentre altri hanno la proprietà di distruggere le cellule neoplastiche che vi pervengono trasportate dalle correnti sanguigne e linfatiche.

Tutti questi fatti, cui innanzi abbiamo accennato, cioè a dire le metamorfosi regressive delle cellule neoplastiche, lo attacchimento delle cellule migrate più facilmente in alcuni organi che in altri, la guarigione spontanea di alcuni tumori dell'uomo e degli animali sono spiegati dal Petersen con la formazione nel plasma sanguigno di citolisine specifiche. Il tumore, secondo l'autore, rappresenta qualche cosa di estraneo per l'organismo, il quale reagisce producendo sostanze capaci di distruggere le cellule neoplastiche.

Nei tumori maligni, come nelle altre infezioni, gli elementi cellulari stimolati dall'agente patogeno alla riproduzione atipica provocano da parte dell'organismo una reazione che si manifesta con la produzione di anticorpi specifici. Il lento decorso di alcune neoplasie, le estese metamorfosi regressive, cui le cellule neoplastiche vanno incontro, il mancato attecchimento di queste cellule emigrate in alcuni organi sono tutti fatti che si spiegano con una considerevole reazione da parte dell'organismo. Quando invece questa reazione è debole, allora il tumore si sviluppa rapidamente, rapidamente infitra i tessuti sani e dà metastasi, le cellule non presentano metamorfosi regressive, nello spazio di pochi mesi il paziente va incontro alla morte.

Nelle infezioni ed intossicazioni sperimentali dei ratti si ripete lo stesso fatto che si osserva nell'uomo. Alle volte in due animali dello stesso peso, inoculati nella cavità addominale con quantità uguali della stessa coltura si vede un decorso diverso della malattia

---

(1) Geschwulstlehre, 1904.

ed un diverso reperto anatomo-patologico. In questi casi si suole dire che si tratta di diversa disposizione individuale, ma a volere dare la esatta spiegazione del fatto in base alle cognizioni scientifiche acquistate, bisogna dire che tutto dipende dalla formazione degli anticorpi specifici.

È interessante ora sapere, se si può aumentare questa reazione da parte dell'organismo in modo da provocare la distruzione completa delle cellule neoplastiche e la guarigione del tumore. Che ciò sia possibile lo dimostrano alla evidenza gli esperimenti che ora riferirò.

Sono stati sottoposti alla cura del siero undici cani con tumori maligni spontanei, di cui due avevano sede nella mucosa prepuziale, cinque nella mucosa vaginale, tre nella glandola mammaria, uno nel connettivo sotto-cutaneo. I primi due tumori aventi sede nella mucosa prepuziale erano già stati da me osservati e studiati in altri cani. Di questi tumori, perchè ne avevo prodotti anche sperimentalmente, conoscevo esattamente la genesi, la struttura, il decorso, la grande malignità per la frequenza e rapidità nella formazione delle metastasi.

Se si osserva la mucosa prepuziale dei cani normali si vedono alla superficie della mucosa tanto parietale, quanto viscerale dei noduli grandi come teste di spillo, alquanto sporgenti, di colorito biancastro. Facendo delle sezioni in serie di questi piccoli noduli perpendicolarmente alla superficie della mucosa si vede che essi sono dovuti ad accumuli di elementi linfoidi, che sollevano alquanto l'epitelio di rivestimento della mucosa (fig. 4, tav. XIX). È appunto da questi elementi linfoidi che si sviluppa la neoformazione prepuziale. Si tratta quindi di veri linfosarcomi. L'epitelio di rivestimento della mucosa non prende parte alla neoformazione. Ho avuto apportunità di fare due autopsie di cani affetti da queste neoformazioni prepuziali e mentre in uno non riscontrai metastasi, nell'altro ne riscontrai nelle glandole linfatiche addominali, nel fegato, nei polmoni e nel midollo delle ossa lunghe. Non vi è dunque alcun dubbio sulla natura di questi tumori e sulla loro malignità.

Il primo cane con tumore al prepuzio fu portato in laboratorio il 14 aprile dell'anno scorso. Era un cane da caccia del peso di chili 19.100. Il tumore al pene misurava la lunghezza di 14 centimetri; la circonferenza alla base era di 15 centimetri, nella parte alta verso l'orifizio prepuziale di 13 centimetri. L'animale si trovava in buone condizioni di nutrizione. Le urine erano normali. La temperatura rettale segnava 38.3. Il giorno 17 aprile gli si fa una prima inoculazione sottocutanea di siero nella quan-

tità di 15 cent. cubici. Dopo 24 ore la temperatura rettale segna 38.8. Le urine si mantengono normali. Il giorno 19 aprile si pratica una seconda inoculazione di siero nella quantità di 23 centimetri cubici. Dopo 24 ore la temperatura rettale segnava 38.6. Le urine non presentavano alcuna alterazione. Il giorno 24 aprile si pratica una terza inoculazione di siero nella quantità di 28 cmc. Dopo 24 ore la temperatura rettale segnava 38.4. Le urine si mantengono normali. La bozza prodotta nel rito d'inoculazione è scomparsa nelle tre iniezioni dopo dieci minuti. La dose totale di siero inoculato è stato di 63 cmc. Alla fine del mese di maggio l'animale fu osservato e non si vedeva alcuna modificazione nel volume del tumore. Durante i mesi di giugno, luglio, agosto, settembre ed ottobre non rividi il cane perchè dovetti assentarmi dalla città. Essendo ritornato ai primi di novembre seppi dallo inserviente che l'animale aveva piaghe di decubito e non mangiava volontieri. Lo sottomisi allora alla osservazione e constatai con sorpresa che il tumore al pene era quasi del tutto scomparso. Infatti l'altezza del pene era rimasta la stessa, ma la circonferenza alla base era appena di 4 centimetri e verso la parte alta in prossimità dell'orifizio prepuziale era di 5 centimetri. Vedendo che l'animale era abbattuto forse per infezione originatasi dalle piaghe di decubito il giorno 19 novembre lo uccisi col cloroformio ed immediatamente lo sezionai.

Qui è da notare che nulla potetti sapere intorno alla data di origine della neoplasia. Quando il cane mi fu portato nell'Istituto, prima di cominciare la cura del siero per essere sicuro della diagnosi istologica della neoplasia escissi un piccolo pezzo del tumore in vicinanza dell'orifizio prepuziale e dopo averlo fissato in liquido di Flemming ne feci numerose sezioni.

Queste sezioni (fig. 1, tav. XX) presentano una struttura reticolare analoga al tessuto linfo-adenoideo. Si osserva un reticolo di sostegno connettivale con prolungamenti che come sottile sostanza intercellulare penetrano tra gli accumuli delle cellule sarcomatose ordinariamente rotonde. Le cellule sarcomatose sono piccole con nucleo grande e corpo protoplasmatico limitato e corrispondono ai piccoli leucociti delle glandole linfatiche. Parecchie cellule sarcomatose presentano nuclei in fasi cariocinetiche atipiche. La struttura del tumore è uniforme, molto più semplice che in una glandola linfatica, nella quale esiste una suddivisione in follicoli, cordoni follicolari e vie linfatiche. Gli elementi cellulari che costituiscono il tumore sono strettamente avvicinati gli uni agli altri.

Nel praticare la sezione dell'animale innanzi tutto spaccai il sacco prepuziale dall'orifizio alla base ed osservai che tanto sulla mucosa parietale (fig. 1, tav. XVIII) che su quella viscerale la neoplasia era ridotta a piccole masse più o meno rotondeggianti ed a lacinie che pendevano tra le masse residuali del tumore. Negli organi della cavità addominale e toracica non vi era alcuna lesione.

Lo studio delle sezioni del tumore principale mostra al completo tutte le fasi della regressione. Dall'azione del siero sono colpiti gli elementi linfoidi costituenti la neoplasia. Essi non appaiono più strettamente avvicinati gli uni agli altri, ma presentano degli spazi liberi (fig. 2, tav. XVIII) ed in alcune sezioni appaiono rari (fig. 3, tav. XVIII), in guisa da mostrare chiaramente il nucleo raggrinzato ed i corpi cellulari ridotti ad un sottile

strato di protoplasma. Avviene poi la cariolisi e la carioressi e la scomparsa degli elementi neoplastici. Questa scomparsa alle volte s'inizia a chiazze (fig. 4, tav XVIII) e poi va mano mano estendendosi. Scomparsi gli elementi neoplastici rimane l'epitelio della mucosa prepuziale e lo stroma connettivale (fig. 2, tav. XIX). In alcune sezioni al posto lasciato dagli elementi linfoidi che costituivano la neoplasia si vede una sostanza omogenea che si colora intensamente in giallo con l'orange e che presenta qua e là scarsi elementi neoplastici residuali in via di disfacimento (fig. 1 e 2, tav. XIX) Questa sostanza in alcuni punti si presenta omogenea, in altri come un reticolo a maglie larghe. Solamente in poche sezioni là dove sono scomparsi gli elementi neoplastici si osserva una trasformazione fibrosa del connettivo sottoepiteliale. Nelle sezioni degli organi della cavità addominale e toracica non ho osservato alcuna lesione.

In base alle osservazioni fatte in questo primo cane sottoposto alla cura del siero, si può dire che si è avuta la riduzione del tumore dovuta alla degenerazione degli elementi neoplastici. Il tumore non è scomparso del tutto, perchè il siero non è stato inoculato in quantità sufficiente. Queste prime inoculazioni di siero furono fatte a scopo di tentativo senza alcuna speranza di ottenere un risultato positivo. Si vedrà dal secondo caso che inoculando il siero in quantità sufficiente si ha la scomparsa totale del tumore.

Avendo ottenuto dei risultati veramente inaspettati nel primo caso si cercarono altri cani con tumori per continuare gli esperimenti con la cura del siero.

Il secondo cane (1) presentava un tumore al pene identico a quello innanzi descritto (fig. 3, tav. XXIII) con una circonferenza alla base di 11 centimetri, una circonferenza nel mezzo di 15 centimetri ed una lunghezza di 13 centimetri. Nel connettivo sottocutaneo si osservavano parecchi noduli alcuni grandi come castagne, altri come nocciuole della stessa consistenza del tumore principale molto aderenti alla cute. La presenza di numerose metastasi sottocutanee faceva pensare alla probabile esistenza di metastasi negli organi della cavità addominale. Prima di iniziare la cura del siero l'animale pesava chili 15.500. Le urine erano normali. La prima iniizione di siero fu fatta il 26 gennaio 1908 nella quantità di 20 cent. cubici. Ogni tre o quattro giorni si fecero iniezioni di siero fino a raggiungere la dose di 350 cmc. Dopo le prime iniezioni si ebbe ad osservare elevazione della temperatura rettale. Un mese dopo l'inizio della cura l'animale presentò un esantema diffuso a tutta la cute dell'addome priva di peli. Un mese dopo lo inizio della cura cominciarono a scomparire alcuni dei noduli più piccoli sottocutanei. Mentre alcuni noduli andadavano diminuendo di volume, altri andavano crescendo, non ostante che

(1) I cani curati non sono esposti in ordine cronologico, ma ordinati in gruppi a seconda della sede e della natura del tumore.

si continuassero le iniezioni del siero, ciò che dimostrava che l'azione del siero non si esercitava contemporaneamente su tutta la massa degli elementi neoplastici. Verso la fine del mese di marzo, alcuni dei noduli sottocutanei più grandi ulcerarono ed in seguito guarirono rapidamente. Verso la fine di aprile anche il tumore principale presentò una ulcerazione. Dopo alcuni giorni si cominciò ad osservare una notevole diminuzione nel volume della massa neoplastica. La circonferenza alla base era ridotta ad 8 centimetri, la circonferenza verso la parte mediana era ridotta e 6 centimetri. Alla metà di maggio tutte le neoformazioni sottocutanee erano scomparse. Ai primi di giugno non esisteva più traccia del tumore principale. Durante le iniezioni del siero si riscontrarono traccie di albumina nelle urine. Trattandosi di un caso importante e grave per la diffusione del processo neoplastico, volli che le mie osservazioni fossero confermate dai colleghi professori Viola, Benedicenti e Donaggio, i quali cortesemente si prestarono a venire più volte nell'Istituto per seguire tutte le modificazioni che l'animale presentò nel decorso della malattia e per constatare la completa guarigione (1). Mentre durante la cura l'animale aveva perduto di peso, a mano a mano che andava rimettendosi aumentava nel peso fino a raggiungere i 13 chili verso la fine di giugno.

In conclusione con la dose di 350 cmc. di siero nello spazio di quattro mesi e mezzo si è ottenuta la guarigione completa di un cane, il quale presentava un linfosarcoma del pene con numerose metastasi sottocutanee.

Trattandosi di un caso così grave, si spiega facilmente la ragione, per la quale si è elevata la dose del siero. Del resto l'animale non ha risentito alcun danno serio dalla inoculazione di dosi elevate di siero. Oggi non vi è più alcuna ragione di preoccuparsi delle iniezioni di alte dosi di siero, perchè in questi ultimi anni si è estesa la sieroterapia oltre che alla difterite in altre malattie come sepsis, reumatismo articolare, dissenteria, scarlattina e si sono fatte iniezioni di dosi elevate senza il minimo pericolo per la vita dell'individuo. La elevazione della temperatura, l'esantema, l'albuminuria, l'edema, i dolori articolari sono tutti sintomi transitori che non compromettono certo la vita dell'individuo. Il Pirquet e lo Schick (2) nella clinica pediatrica del prof. Escherich hanno inoculato in bambini di 2-3 anni fino a 200 cmc. di siero antiscarlattinoso senza alcun pericolo per la vita e si noti che si trattava di siero di cavallo, il quale è certamente più tossico del siero di cane.

Una osservazione importante si deduce da quanto si è esposto intorno alla guarigione del secondo caso ed è che le metastasi sottocutanee sono scomparse prima del tumore principale ciò che fa-

---

(1) Gli stessi colleghi mi usarono la cortesia di seguire la cura degli altri cani e di osservare le sezioni che dimostravano la efficacia del siero.
(2) Die Serumkrankheit. Lipsia, 1906.

rebbe supporre che il siero avesse azione dannosa prima sugli elementi neoplastici giovani e poi su quelli di antica data.

Per spiegare questo fatto è necessario intendere il meccanismo di azione dell'antitossina.

La tossina che è fissata nelle cellule neoplastiche e che rappresenta in esse lo stimolo alla moltiplicazione atipica incessante è trasmessa con la riproduzione da cellula a cellula. Nelle cellule giovani la unione è meno intima, meno stabile che nelle cellule vecchie. Se non si ammettesse ciò, non potremmo spiegarci l'attecchimento delle cellule neoplastiche nei numerosi trapianti da animale ad animale della stessa specie. La cellula neoplastica porta con sè attraverso numerosi individui della stessa specie lo stimolo alla riproduzione atipica. L'antitossina inoculata col siero neutralizza la tossina, distrugge cioè ciò che stimolava alla riproduzione le cellule del tumore. Cessato lo stimolo gli elementi neoplastici rappresentano un *quid* estraneo all'organismo e devono perciò regredire.

La tossina esistente nelle cellule neoplastiche vecchie, analogamente a quanto succede nelle altre infezioni, è più difficilmente distaccabile o neutralizzabile di quella esistente nelle cellule giovani.

Le cinque cagne che furono sottoposte alla cura del siero presentavano un tumore nella mucosa vaginale, la cui natura e la cui istogenesi è perfettamente analoga al tumore della mucosa prepuziale dei cani.

Nella mucosa vaginale normale delle cagne esistono dei follicoli linfatici identici a quelli che si riscontrano nella mucosa prepuziale (fig. 2, tav. XXI). Da questi follicoli linfatici si sviluppa un tumore con struttura simile ai linfosarcomi descritti nella mucosa prepuziale dei cani. Si tratta quindi di veri linfosarcomi vaginali.

La prima cagna sottoposta alla cura del siero del peso di chili 3.600 presentava un tumore nella vagina (fig. 2-3, tav. XX) che misurava nel diametro trasverso cm. 5.5 e nel diametro longitudinale cm. 7.5. Aprendo le grandi labbra della vagina si vedevano delle masse carnose di colorito rosso, in alcuni punti ulcerate. Dall'ostio vaginale colava un liquido purulento fetidissimo.

Un piccolo pezzo della massa neoplastica fu escisso prima di cominciare la cura per stabilire con esattezza la diagnosi istologica e fu immediatamente fissato nel liquido del Flemming. Le sezioni (fig. 1, tav. XXI) di questo pezzo mostrano la stessa struttura del linfosarcoma già descritto nella mucosa prepuziale dei cani.

La prima inoculazione di siero fu fatta il 1° dicembre 1907 nella quantità di 20 cent. cubici. Le successive inoculazioni sottocutanee furono praticate alla distanza di 4-5 giorni fino a raggiungere la dose di 127 cmc.

Questa prima cagna non ebbe orticaria, non presentò mai traccie di albumina nelle urine. Nella prima quindicina di gennaio il tumore era già alquanto ridotto (fig. 4, tav. XX) e nella massa neoplastica si vedevano delle chiazze di un colorito bianco gialliccio, di consistenza gelatinosa, Escisse alcune di queste masse gelatinose ed esaminate al microscopio dopo fissazione e colorazione con emallume ed orange facevano vedere gli elementi neoplastici in via di disfacimento. Verso la fine di febbraio la massa neoplastica aveva assunto in tutta la sua estensione l'aspetto gelatinoso e si era ancora ridotta di volume (fig. 5, tav. XX). Alla fine di marzo il tumore era del tutto scomparso e la vagina avevo ripreso il suo aspetto normale (fig. 6, tav. XX).

In conclusione dopo 4 mesi dall'inizio della cura con 127 cmc. di siero l'animale era guarito del tumore.

La seconda cagna del peso di 20 chilogrammi aveva anche un tumore nella vagina della stessa natura. Il tumore si estrinsecava più verso la parte profonda della vagina che verso l'orifizio e perciò se ne apprezzava bene la estensione praticando la esplorazione digitale. Non si praticò la escissione di un pezzo, perchè era evidente la natura del tumore.

La prima iniezione sottocutanea di siero fu fatta il 15 gennaio nella quantità di 30 cmc.

Le successive inoculazioni sottocutanee furono praticate alla distanza di 3-4 giorni fino a raggiungere la dose di 210 cm. Alla fine di marzo l'animale era completamente guarito,

In questo animale si è avuta la guarigione dopo 2 mesi e mezzo dall'inizio della cura. L'animale non ha sofferto alcun danno dalla iniezione del siero.

La terza cagna del peso di chilogrammi 13. 5 presentava una massa carnosa voluminosa sporgente dall'orifizio vaginale, di colorito rosso, di consistenza molle, facilmento sanguinante, ulcerata in qualche punto. Come nell'altra cagna anche in questa si notava una secrezione fetida. La prima inoculazione sottocutanea di siero fu fatta il 1° gennaio 1908 nella quantità di 20 cmc.

Le successive inoculazioni furono fatte a distanza di 3-4 giorni fino a raggiungere la dose di 300 cmc. Dopo 15 giorni dallo inizio della cura la secrezione era modificata e non dava più cattivo odore. Ai primi di marzo la massa neoplastica che fuoriusciva dalla vagina era diminuita di volume e qua e là mostrava chiazze di un colorito bianco-gialliccio, come quelle notate nella prima cagna. Alla fine di aprile era scomparsa questa massa neoplastica che faceva sporgenza dall'orifizio vaginale e le grandi labbra combaciavano in modo completo. Solamente quando si allontanavano tra di loro le grandi labbra apparivano sulla mucosa vaginale masse neoplastiche residuali. Alla fine di giugno non vi era più traccia di tumore. In questa terza cagna si è avuta la guarigione dopo 5 mesi dallo inizio della cura.

In questa cagna non si è notato nè orticaria, nè presenza di albumina nelle urine. Alla fine di giugno il peso dell'animale era di chilogrammi 11.800.

Nella quarta cagna del peso di chilogrammi 7 il tumore sporgeva, come nella precedente, dall'orifizio vaginale ed era a superficie mammellonare. La prima inoculazione sottocutanea di siero fu fatta il 31 gennaio 1908 nella quantità di 20 cmc.

Nelle successive inoculazioni ripetute a distanza di 4 giorni si raggiunse la dose di 249 cmc. Ai primi di aprile il tumore era già di molto ridotto mostrando le stesse modificazioni osservate nella cagna precedente. Il 24 giugno l'animale è colto da convulsioni e dopo poche ore muore. L'orifizio vaginale (fig. 4, tav. XXIII) appare quasi normale. Fatto un taglio sulle grandi labbra sulla mucosa vaginale appaiono masse residuali del tumore (fig. 5, tav. XXIII). Negli organi della cavità addominale e toracica non si osservano lesioni. Nelle sezioni delle masse neoplastiche residuali si vedono tutte le fasi di regressione che sono state descritte nel primo cane.

In questa cagna dopo 4 mesi e 24 giorni dall'inizio della cura con 240 cmc. di siero non era ancora avvenuta la regressione completa del tumore.

Nella quinta cagna del peso di chilogrammi 9. 100 (fig. 5, tav. XXIV) il tumore si estrinsecava più nella parte profonda della vagina che verso l'orifizio. La prima inoculazione sottocutanea fu fatta il 27 maggio 1908 nella quantità di 20 cmc. Nelle successive inoculazioni ripetute ogni 4-5 giorni si raggiunse la dose di 200 cmc. Alla fine di luglio il tumore era ridotto di molto, ma non scomparso del tutto.

Non tenendo conto della quarta e della quinta cagna, nelle quali non si è avuta la guarigione completa, ma solamonte delle tre prime, nelle quali la guarigione è stata completa, come si spiega che nella prima la guarigione è avvenuta dopo 4 mesi, nella seconda dopo 2 mesi e mezzo, nella terza dopo 5 mesi?

È da notare che non ho potuto avere alcuna notizia esatta circa la durata della malattia. Credo potersi ammettere che le neoplasie degli animali guariti in un tempo più breve erano di data più recente. Le ulteriori ricerche confermeranno questa supposizione.

In queste prime ricerche intorno alla cura dei tumori maligni dei cani, preoccupato solo di vedere se era possibile ottenere la guarigione ho inoculata una quantità di siero certamente superiore a quella necessaria. Nelle ulteriori ricerche potendo disporre di un considerevole numero di casi, si potrà stabilire con esattezza, a seconda della durata più o meno lunga della neoplasia ed a seconda

della maggiore o minore estensione, la quantità di siero necessaria per la cura. Fin da ora si può affermare che anche dosi elevate di siero fino a raggiungere i 30 cmc. per chilogramma di animale sono benissimo tollerate e non rappresentano alcun pericolo per la vita.

Ed ora esporrò i risultati della cura in tre cagne che presentavano adeno-carcinomi della mammella.

La prima cagna che mi fu portata già operata nel febbraio del 1907 di un tumore alla mammella superiore sinistra, presentava nello stesso sito un tumore grande quasi quanto una castagna, bernoccoluto, di consistenza duro, poco spostabile, con cute molto aderente. In corrispondenza del tumore mancava il capezzolo perchè portato via con la prima operazione. Si trattava di una recidiva in sito in seguito ad operazione incompleta. Prese le dimensioni del tumore con un nastro misuratore si trovò la larghezza uguale a 6 cm. e la lunghezza uguale a 5 cm. La cagna pesava 13 chili. Per essere certi della natura del tumore fu fatta la escissione di un piccolo pezzo. L'esame istologico delle sezioni (fig. 3 e 4, tav. XXI) dimostrò che si trattava di un adeno-carcinoma. Il tumore mostrava struttura alveolare. I singoli alveoli erano rivestiti di epitelio cilindrico ove ad un solo strato di cellule ove a più strati con numerose estroflessioni ed introflessioni. La prima inoculazione sottocutanaa di siero fu fatta il giorno 8 gennaio 1908 quando l'animale era completamente guarito dell'atto operativo eseguito per la escissione di un pezzo del tumore. Le successive inoculazioni furono fatte a distanza di 4-5 giorni fino a raggiungere la dose di 328 cmc. di siero. Si tenne conto come in tutti gli altri casi delle variazioni del peso e della temperatura rettale. Solamente dopo le prime inoculazioni di siero si è osservata leggiera elevazione della temperatura. Il peso dell'animale ha presentato piccole variazioni da non attribuirsi certo alle inoculazioni del medicamento. Un mese dopo l'inizio della cura il tumore non era più della stessa durezza di prima ed i noduli che lo costituivano e che prima si distinguevano al tutto nettamente separati gli uni dagli altri sembravano confluenti. Tre mesi dopo l'inizio della cura vedendo che il tumore, quantunque avesse diminuito di consistenza e di volume, non era scomparso, decido di asportarlo. Il tumore asportato si presenta mammellonato, di consistenza piuttosto molle in alcuni punti. Alla sezione mediana si vedono cavità cistiche ripiene di un liquido di colore bruno e masse compatte. di colorito bianco-gialliccio, di aspetto gelatinoso, come il tessuto gelatinoso di Wharton. Dal tumore fissato in liquido del Flemming si fecero numerose sezioni per lo studio istologico. Non fu poca la sorpresa nel vedere la struttura del tumore completamente diversa da quella che era prima. Essendovi ancora porzioni del tessuto neoplastico che non hanno ancora risentita l'azione dannosa del siero, si possono seguire tutte le fasi regressive degli elementi neoplastici

Un primo fatto che si osserva è la disorientazione delle cellule epiteliali cancerigne, le quali non giacciono più negli alveoli ordinate regolarmente a palizzata, ma sono disposte irregolarmente coi nuclei meno ricchi di sostanza cromatica e coi corpi cellulari di forma irregolare (fig. 1-2,

tav. XXII). In un secondo tempo procede oltre la degenerazione degli elementi cellulari e comincia a manifestarsi la sostanza intercellulare sotto forma di un reticolo intensamente colorato in bleu dalla ematossilina. E' una formazione *ex vacuo* di questa sostanza cementizia, la quale tende a colmare il vuoto lasciato dalla regressione degli elementi epiteliali cancerigni. Questa fase regressiva comincia dalla periferia degli alveoli e procede verso il centro così che spesso si vede in alcuni alveoli la periferia già in fase regressiva avanzata ed il centro occupato ancora da epitelio cilindrico cancerigno ancora non colpito dall'azione dannosa del siero (fig. 3, tav. XXII). In seguito va sempre più aumentando la sostanza intercellulare a mano a mano che vanno sempre più degenerando gli elementi cellulari, fino a che rimangono sequestrati come in tante nicchie formate dalla sostanza intercellulare (fig. 4, tav. XXII). In questa ultima fase degenerativa il tessuto cancerigno ricorda la cartilagine.

In seguito all'azione del siero si esagerano i processi di metamorfosi regressive che si osservano normalmente nei carcinomi. La tendenza di questi alle metamorfosi regressive è spiegata dal modo stesso di loro formazione. Una volta che l'epitelio nella degenerazione carcinomatosa perde i rapporti normali con l'apparato vasale e connettivale, ne derivano condizioni sfavorevoli per la sua nutrizione. Fin dai tempi di Lebert e Rokitansky si è fatta menzione della degenerazione grassa, della trasformazione caseosa e colloide che avviene nei tumori maligni. La metamorfosi adiposa è la più diffusa in tutti i tumori. Essa comincia con la comparsa di goccioline adipose nel citoplasma. Le goccioline aumentano senza confluire a spese della sostanza cellulare e del nucleo. Sicchè scompare non solo il corpo cellulare, ma anche il nucleo. La metamorfosi adiposa è ordinariamente più estesa nei carcinomi che nei sarcomi. Come la metamorfosi adiposa così anche la caseificazione non offre nulla di caratteristico per i tumori maligni, ed è morfologicamente identica al prodotto caseoso della tubercolosi e della sifilide, solamente è più ricca di grasso che non la sostanza caseosa della tubercolosi. La caseificazione avviene più frequentemente nei carcinomi compatti, specialmente del fegato.

Quanto alla metamorfosi colloide così manifesta nell'adeno-carcinoma della mammella in seguito all'azione del siero, non si sa nulla della natura chimica di questa sostanza che si origina nei tumori. Il fatto stesso che ora si parla di degenerazione colloide, ora gelatinosa, ora ialina, dimostra che non si conosce nulla di esatto intorno alla natura di queste sostanze. Solamente alcune sostanze si conoscono esattamente e si possono distinguere dalle altre, come, ad esempio, la mucina che con l'acido acetico dà coaguli a filamenti e si colora in bleu con la ematossilina. La trasformazione

mucosa è specialmente frequente in alcuni sarcomi, i quali perciò si denominano mixosarcomi. Oltre alla mucina è da menzionare il glicogene nelle cellule parenchimali, come sostanza caratteristica dal punto di vista chimico, mentre la sostanza amiloide appartiene allo stroma. La degenerazione colloide, ialina e gelatinosa si presenta nelle singole cellule o colpisce estese porzioni, per cui avviene un esteso disfacimento. Questi processi si possono seguire nelle singole cellule. O tutta la cellula può subire la degenerazione ialina o colloide, ovvero queste sostanze si presentano nelle cellule in forma di goccioline. Il primo processo è sempre combinato con una distruzione del nucleo, che scompare sotto forma di carioressi con consecutiva cariolisi.

Nelle condizioni normali non ostante tutte le metamorfosi regressive, cui abbiamo accennato, la massa del tumore cresce sempre e non si dà mai il caso che una neoplasia maligna sia interamente distrutta dalle metamorfosi regressive.

Ed ora esporrò il risultato della sieroterapia in una seconda cagna con adeno-carcinoma della mammella (1).

Si trattava di una cagna del peso di chili 19.500, con un tumore alla mammella inferiore sinistra grande quanto una noce, di consistenza duro, bernoccoluto, fittamente aderente alla cute. L'esame microscopico di un piccolo pezzo escisso dimostrò trattarsi di un adeno-carcinoma tipico simile a quello della prima cagna (fig. 5, tav. XXI). La cura fu cominciata il 24 gennaio 1908. Ogni 4-5 giorni si fecero inoculazioni sottocutanee di 20 cmc. di siero fino a raggiungere la dose di 225 cmc. Come nell'altra cagna non si ebbe a notare nè orticaria, nè presenza di albumina nelle urine. Dopo 4 mesi dall'inizio della cura, vedendo che il tumore era diminuito un po' di volume e di consistenza, ma non era scomparso, si decide di portarlo via. Spaccato a metà il neoplasma presenta una superficie omogenea di colore bianchiccio, della consistenza di una cartilagine molle. L'osservazione microscopica delle sezioni dimostra una regressione del tessuto neoplastico più avanzata di quella del tumore precedente. Il tessuto epiteliale cancerigno non esiste più in alcuna porzione del tumore. Le cellule epiteliali cilindriche con nuclei raggrinzati e corpi cellulari ridotti di volume, sono comprese in una sostanza fondamentale omogenea,

---

(1) Alcuni preparati microscopici di questa seconda cagna ed alcuni del primo cane con linfosarcoma prepuziale molto dimostrativi per le metamorfosi regressive dovute all'azione del siero, ho inviato al professore Czerny di Heidelberg, ed al prof. Baumgarten di Tubinga. Il primo molto cortesemente mi ha risposto nei seguenti termini: « Heute habe ich ihre Präparate studirt und bin sehr uberracht ueber die kolossale Veränderüng welche die Serumbehandlung in den Tumoren hervorbringt ». Il Baumgarten si è espresso nel modo seguente: « Ich habe mich von den grossen Differenz der Erscheinungen vor und nach Serumbehandlung überzeugt ».

intensamente colorata in bleu dalla ematossilina (fig. 1-2, tav. XXIII). La genesi di questa sostanza è identica a quella osservata nella prima cagna.

La terza cagna sottoposta alla cura del siero presentava un tumore nella seconda mammella superiore sinistra con un diametro trasversale di 4 cm. ed un diametro longitudinale di 5 cm., a superficie liscia, di consistenza dura. Il peso dell'animale era di chili 8.900, la temperatura rettale segnava 38°.6. La prima inoculazione sottocutanea di siero nella quantità di 30 cmc., fu fatta il 17 gennaio 1908.

Le inoculazioni successive furono fatte alla distanza di 4-5 giorni nella quantità di 20-30 cmc., sino a raggiungere la dose di 243 cmc. di siero. L'animale non ha risentito alcun danno dalle iniezioni sottocutanee di siero. Non si è notata neanche elevazione della temperatura rettale dopo le prime inoculazioni. In questa terza cagna non si credette necessario praticare la escissione di un pezzo di tumore, perchè era evidente che si trattava di un tumore perfettamente simile a quelli osservati nelle due cagne precedenti. Cinque mesi dopo l'inizio della cura fu escissa la neoplasia che era alquanto diminuita di volume e di consistenza. Spaccato il tumore (fig. 3, tav. XXIV) la superficie di sezione appariva di un colorito bianchiccio verso la periferia e di un colorito bianco intenso verso il centro. Verso la periferia la consistenza era come quella di una cartilagine molle, verso il centro era dura come una cartilagine osseificata. Furono fatte sezioni totali del tumore. L'osservazione microscopica di queste sezioni dimostra che tutto il tessuto cancerigno si è trasformato in una massa omogenea intensamente colorata in bleu dalla ematossilina, nella quale, come in tante nicchie, sono contenuti uno o più elementi neoplastici residuali, con nuclei raggrinzati, e corpi cellulari irregolari e ridotti molto di volume (fig. 2-4, tav. XXIV). Sembra, in una parola di avere sott'occhio un tessuto cartilagineo. Questo tessuto che rappresenta il tessuto cancerigno metamorfosato è circondato dalla capsula connettivale, nella quale si vedono acini della glandola mammaria perfettamente normali. Il nucleo centrale calcificato della massa neoplastica regredita farebbe ammettere che la regressione del tumore comincia dal centro e procede verso la periferia del tumore. Quanto alla calcificazione già si sa che essa segue nelle cellule cancerigne atrofiche e morte La calcificazione del parenchima carcinomatoso si verifica anche nei carcinomi cutanei a lento sviluppo. Non raramente succede la calcificazione in aggregati cellulari, concentricamente stratificati, i quali ricordano i corpi calcarei degli psammomi. Simili calcificazioni sono state descritte dal Neugebauer in un adeno-carcinoma della glandola mammaria con metastasi nelle glandole ascellari.

A proposito dell'aspetto di tessuto cartilagineo assunto dal tessuto neoplastico regredito nelle tre cagne, è da ricordare quanto oggi si conosce intorno alla genesi dei condromi delle parti molli.

Nel territorio della parotide si fanno derivare da residui degli archi branchiali, specialmente in quanto essi vengono utilizzati per la formazione dell'orecchio.

I condromi della mammella e del diaframma si fanno derivare

da germi di costole, quelli del testicolo, dalla colonna vertebrale. Ora, indipendentemente dalla presenza di residui embrionali di cartilagine è lecito ammettere in seguito alla osservazione di tutte le fasi regressive degli adenocarcinomi delle cagne che un tessuto avente l'aspetto della cartilagine si possa formare nella regressione degli elementi neoplastici cancerigni.

Tutte le cagne curate finora stanno benissimo e non presentano la minima traccia di recidiva.

In conclusione si può dire che il siero di sangue dei cani trattati con le colture in mezzi liquidi dei blastomiceti patogeni, contenenti parassiti morti e tossine, esercita azione dannosa sulle cellule neoplastiche cancerigne nello stesso modo che sulle cellule sarcomatose. Le cellule carcinomatose in seguito all'azione del siero si disorientano, in parte degenerano e sono riassorbite, in parte sono sequestrate dalla sostanza intercellulare cementizia che tende a riempire il vuoto lasciato dalle cellule epiteliali degenerate. Si ha così la forma di un *caput mortum* destinato come corpo estraneo ad essere incrostato di sali calcarei. I tumori carcinomatosi, nella guarigione si rtducono di volume, ma non scompaiono del tutto.

Devo ora fare menzione di un ultimo caso. Ai primi di febbraio mi fu portata nel laboratorio una cagna da caccia, del peso di chili 18.900, la quale presentava al lato sinistro dell'addome (fig. 1, tav. XXIV) un tumore lungo 9 centimetri, largo 5 centimetri, con larga base d'impianto, poco spostabile, di consistenza pastosa, a superficie liscia.

Essendo una cagna da caccia di valore che dopo la cura doveva essere restituita al proprietario, non si procede alla escissione di un pezzo del tumore per essere certi della diagnosi, lasciando al siero il compito di fare la diagnosi. Dall'esame clinico del tumore si escluse trattarsi di carcinoma e si ammise la natura sarcomatosa. La prima inoculazione sottocutanea di siero fu fatta il 16 febbraio 1908 e le successive inoculazioni furono fatte alla distanza di 4-5 giorni. In tutto furono inoculati 180 cmc. di siero. Dopo 2 mesi e 13 giorni dall'inizio della cura, il tumore era completamente scomparso e l'animale fu restituito al proprietario. Alla fine dello scorso giugno ho riveduto la cagna e l'ho osservata attentamente nel sito ove era il tumore e non ho trovato alcuna traccia di recidiva. E' dispiacevole che in questo caso sia mancato l'esame microscopico del tumore, ma non mancheranno altri casi in seguito, nei quali si potrà seguire la regressione dei tumori sarcomatosi.

VI.

Considerazioni riassuntive.

I blastomiceti patogeni inoculati negli animali suscettibili possono dar luoge a vere infezioni, nelle quali i parassiti sono molto numerosi e la reazione da parte del tessuto è molto scarsa, ed a vere intossicazioni, nelle quali la moltiplicazione degli elementi cellulari è dovuta ad un prodotto solubile, ad una tossina da essi elaborata. Nelle colture i blastomiceti sono capaci di produrre le tossine solamente su alcuni speciali substrati di nutrizione solidi e liquidi.

Nell'uomo sono piuttosto rare le infezioni blastomicetiche locali (pseudotumori) o diffuse (blastomicesi) e sono invece frequenti le intossicazioni, i veri tumori maligni.

Moltiplicandosi i parassiti che si trovano a contatto di determinati gruppi cellulari, producono la tossina, la quale fissata dalle cellule rappresenta lo stimolo alla loro riproduzione atipica. Sicchè il parassita agisce in un primo momento ed in seguito è la tossina che dà luogo alla formazione del tumore. I parassiti trasformati dall'anticorpo specifico in corpuscoli fucsinofili o di Russell, rimangono come *caput mortum* nell'interno del tessuto neoplastico. La tossina fissata dalle cellule neoplastiche rimane integra e si trasmette da cellula a cellula. Non si potrebbero spiegare i trapianti delle neoplasie maligne attraverso numerose generazioni di animali della stessa specie, se non si ammettesse che le cellule neoplastiche trapiantate portano seco lo stimolo alla riproduzione atipica. Il modo come avviene la formazione del tumore nei trapianti è quello che più si avvicina al modo naturale d'infezione.

La reazione dell'organismo in seguito alla inoculazione delle colture dei blastomiceti patogeni contenenti parassiti morti e tossine si manifesta con la formazione di anticorpi specifici. Di questi anticorpi interessano specialmente quello ad azione battericida, cui è dovuta la trasformazione dei parassiti in corpuscoli fucsinofili e quello, cui è dovuta l'azione antitossica, la neutralizzazione della tossina fissata nelle cellule neoplastiche e rappresentante lo stimolo alla loro riproduzione atipica.

L'efficacia antitossica e battericida del siero degli animali preparati si determina inoculando nella cavità addominale dei ratti un

miscuglio costituito da un cmc. della coltura in mezzo liquido contenente parassiti vivi e tossine e da un decimo di cmc. del siero. Se la piccola quantità di siero inoculata impedisce la morte degli animali, può usarsi con vantaggio nella cura dei tumori maligni.

Tanto più facilmente riesce la cura dei tumori maligni, quanto meno intimamente è legata la tossina alle cellule neoplastiche. Dalle cellule neoplastiche vecchie la tossina si lascia distaccare più difficilmente che dalle cellule neoplastiche giovani. Quanto più presto si applica la sieroterapia ai tumori maligni, tanto più facilmente è sperabile la guarigione. I risultati positivi finora ottenuti sui cani dànno certamente buona speranza di guarigione dei tumori maligni nell'uomo.

Messina, agosto 1908.

SPIEGAZIONE DELLE TAVOLE VIII A XXIV.

Tavola VIII.

Fig. 1. — Milza di cane morto 40 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 2. — Milza di cane morto 53 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 3 — Tumore nel grande omento di cane morto 44 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 4. — Milza dello stesso cane.
Fig. 5. — Milza di cane morto 5 mesi e 23 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Tavola IX.

Fig. 1. — Neoformazione sul fegato di cane morto 53 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig, 2. — Tumore del grande omento di cane morto 44 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 3. — Neoformazione sulla milza di cane morto 5 mesi e 23 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 4. — Tumore nel polmone di un cane morto in seguito alla inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Tavola X.

Fig. 1. — Tumore del grande omento di cane morto 39 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 2. — Metastasi nel polmone di cane morto 3 mesi e 12 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 3. — Tumore nel grande omento di ratto morto 53 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 4. — Neoformazione nello addome di ratto morto 7 mesi e 24 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Tavola XI.

Fig. 1. — Neoformazioni nella cavità addominale e nel polmone di ratto morto 7 mesi dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 2. — Neoformazione nella cavità addominale di ratto morto 7 mesi dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 3. — Neoformazione nella cavità addominale di ratto morto 50 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 4. — Neoformazione sulla superficie del fegato dello stesso ratto.

Tavola XII.

Fig. 1. -- Neoformazione nella cavità addominale e nei polmoni di ratto morto 73 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 2 — Neoformazione alla superficie dei reni dello stesso animale.

Fig. 3. — Neoformazione nella cavità addominale di ratto morto 28 giorni dopo il trapianto in addome di tumori addominali di altro ratto.

Fig. 4 e 5. — Neoformazioni nei polmoni di ratto morto 58 giorni dopo la inoculazione addominale di tumori addominali di altro ratto.

Tavola XIII.

Fig. 1. — Neoformazioni nei polmoni di ratto morto 25 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 2. — Idem.

Fig. 3. Neoformazione nella milza di ratto morto 25 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 4. — Tumore nella cavità addominale di ratto morto 53 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Tavola XIV.

Fig. 1. — Neoformazione in una glandola linfatica in vicinanza della glandola mammaria di ratto morto 8 mesi dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 2. — Neoformazione nel polmone di ratto morto 50 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 3. — Neoformazione nel polmone di ratto morto 72 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.

Fig. 4. — Idem.

Tavola XV.

Fig. 1. — Neoformazione nelle glandole linfatiche addominali di ratto morto 67 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 2. — Neoformazioni sul rene dello stesso ratto.
Fig. 3. — Pseudo-tumore nel polmone di ratto morto 9 mesi e 22 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti senza tossine.
Fig. 4. — Neoformazione nel rene di ratto morto 73 giorni dopo la inocuazione addominale di parassiti e tossine.

Tavola XVI.

Fig. 1. — Neoformazione infiltrante il tessuto cellulo-adiposo del grande omento di ratto morto 72 giorni dopo la inoculazione addominale di parassiti e tossine.
Fig. 2. — Neoformazione nella glandula linfatica del mediastino dello stesso animale.
Fig. 3. — Neoformazione nel polmone di ratto morto 4 mesi e 8 giorni dopo la inoculazione addominale di tumori addominali di altro ratto.
Fig. 4. — Neoformazione nel fegato dello stesso ratto.

Tavola XVII.

Fig. 1. Neoformazione nel polmone di ratto morto 58 giorni dopo la inoculazione addominale di tumori addominali di altro ratto.
Fig, 2. — Idem.
Fig. 3. — Idem.
Fig. 4. — Massa neoplastica nella vena renale dello stesso animale.

Tavola XVIII.

Fig. 1. — Linfosarcoma prepuziale in un cane 7 mesi dopo lo inizio della sieroterapia. Massa neoplastica residuale, lacinie epiteliali svuotate dagli elementi neoplastici.
Fig. 2. — Idem. Elementi neoplastici in via di regressione.
Fig. 3. — Idem. Stadio più avanzato di degenerazione degli elementi neoplastici.
Fig. 4. — Idem. Masse neoplastiche, nelle quali sono quasi del tutto riassorbiti gli elementi neoplastici.

Tavola XIX.

Fig. 1. — Linfosarcoma prepuziale in un cane 7 mesi dopo lo inizio della sieroterapia. Agli elementi neoplastici si sostituisce una sostanza omogenea che poi diventa reticolata e scompare.
Fig. 2. — Idem. Massa del tumore, nella quale sono quasi completamente riassorbiti gli elementi neoplastici ed è rimasto solamente l' epitelio della mucosa e lo stroma.
Fig. 3. — Idem. Scomparsa graduale della sostanza omogenea che costituisce la massa neoplastica.

Fig. 4. — Mucosa prepuziale normale di cane. Follicolo linfatico, da cui ha origine il linfosarcoma prepuziale.

TAVOLA XX.

Fig. 1. — Linfosarcoma prepuziale del cane prima dello inizio della cura.
Fig. 2. — Linfosarcoma della vagina di una cagna prima dello inizio della cura.
Fig. 3. — Idem.
Fig. 4. — Idem. Qualche tempo dopo lo inizio della cura.
Fig. 5. — Idem. Qualche tempo dopo lo inizio della cura.
Fig. 6. — Idem. A cura finita.

TAVOLA XXI.

Fig. 1. — Linfosarcoma della vagina di una cagna prima dello inizio della cura.
Fig. 2. — Mucosa normale della vagina di una cagna. Follicolo linfatico, da cui si origina il linfosarcoma.
Fig. 3. — Adeno-carcinoma della mammella della cagna prima dello inizio della cura.
Fig. 4. — Idem.
Fig. 5. — Adenocarcinoma della mammella della cagna II, prima dello inizio della cura.

TAVOLA XXII.

Fig. 1. — Adenocarcinoma della mammella della cagna I, 3 mesi dopo lo inizio della cura.
Fig. 2. — Idem.
Fig. 3. — Idem.
Fig. 4. — Idem.

TAVOLA XXIII.

Fig. 1. — Adeno-carcinoma della mammella della cagna II, 4 mesi dopo lo inizio della cura.
Fig. 2. — Idem.
Fig. 3. — Linfosarcoma prepuziale di un cane prima dello inizio della cura.
Fig. 4. — Linfosorcoma della vagina di una cagna dopo la cura.
Fig. 5. — Idem.

TAVOLA XXIV.

Fig. 1. — Sarcoma sottocutaneo di una cagna.
Fig. 2. — Adeno-carcinoma della mammella della cagna III, 5 mesi dopo lo inizio della cura.
Fig. 3. — Residuo del tumore della stessa cagna 5 mesi dopo lo inizio della cura.
Fig. 4. — Adeno-carcinoma della mammella della cagna III, 5 mesi dopo lo inizio della cura.
Fig. 5. — Linfosarcoma della vagina di una cagna prima dello inizio della cura.

Estratto dagli *Annali d'Igiene Sperimentale*, anno 1908, fasc. IV.

Roma, 1908 — Tipografia Nazionale di G. Bertero e C.
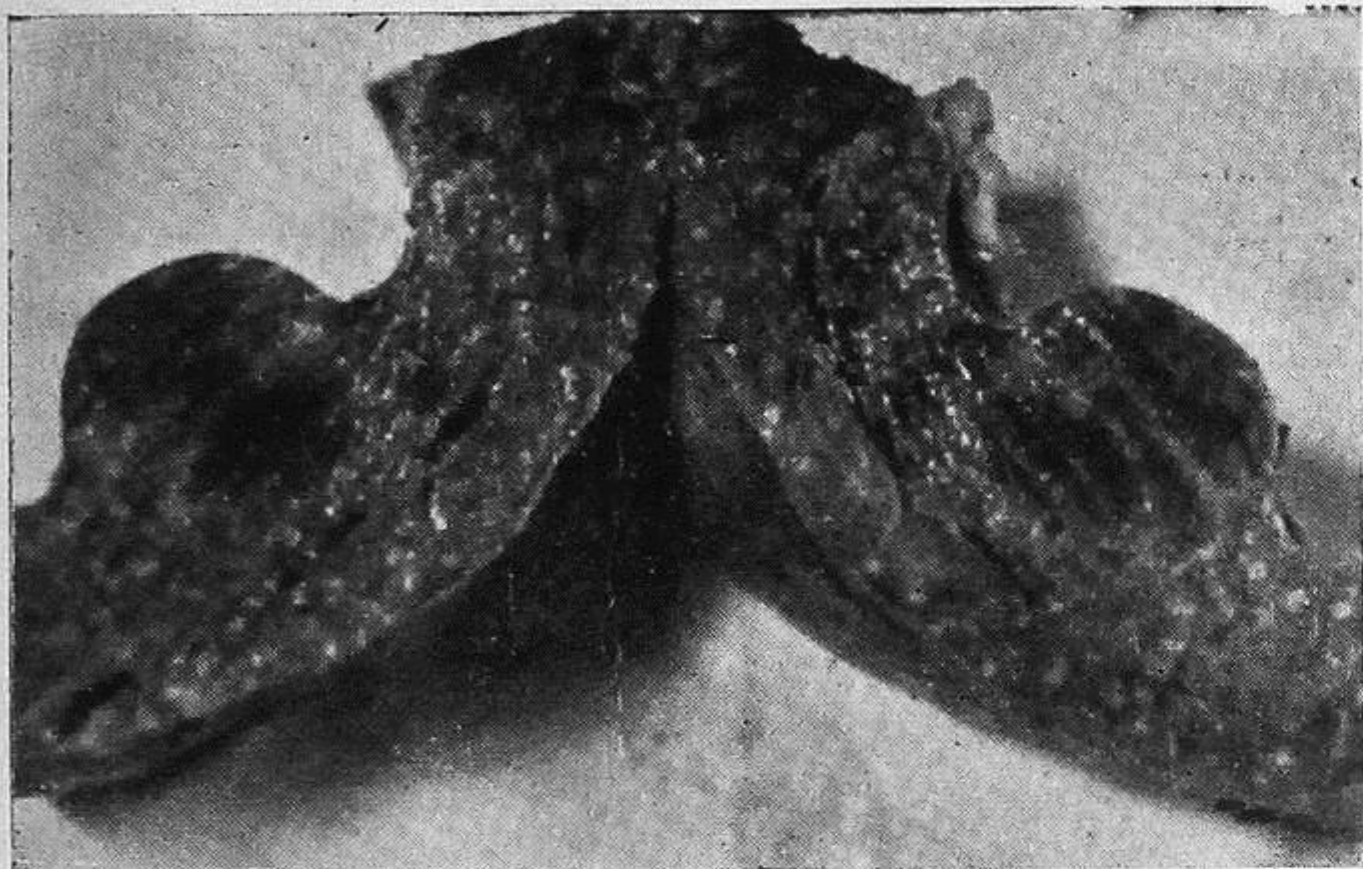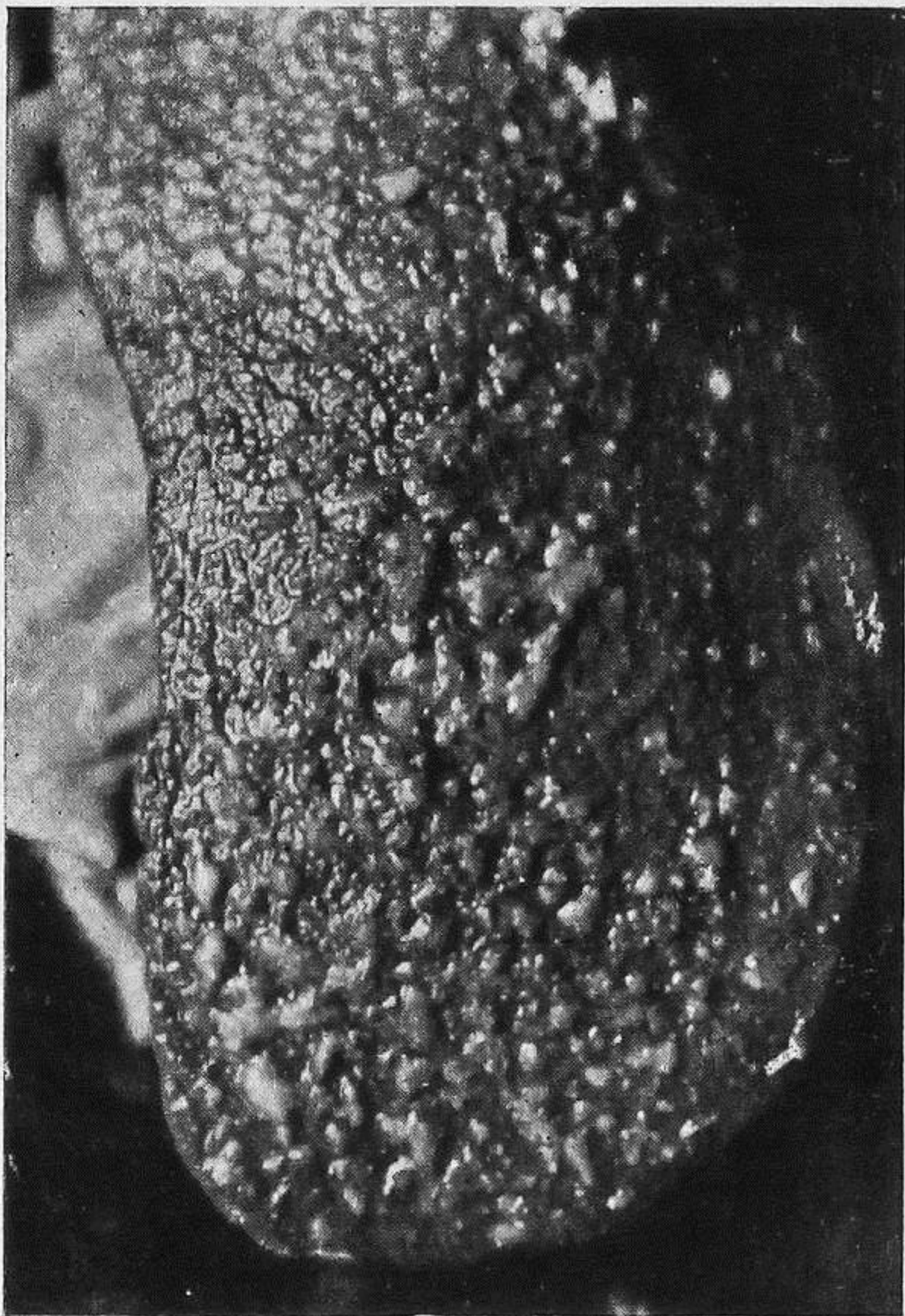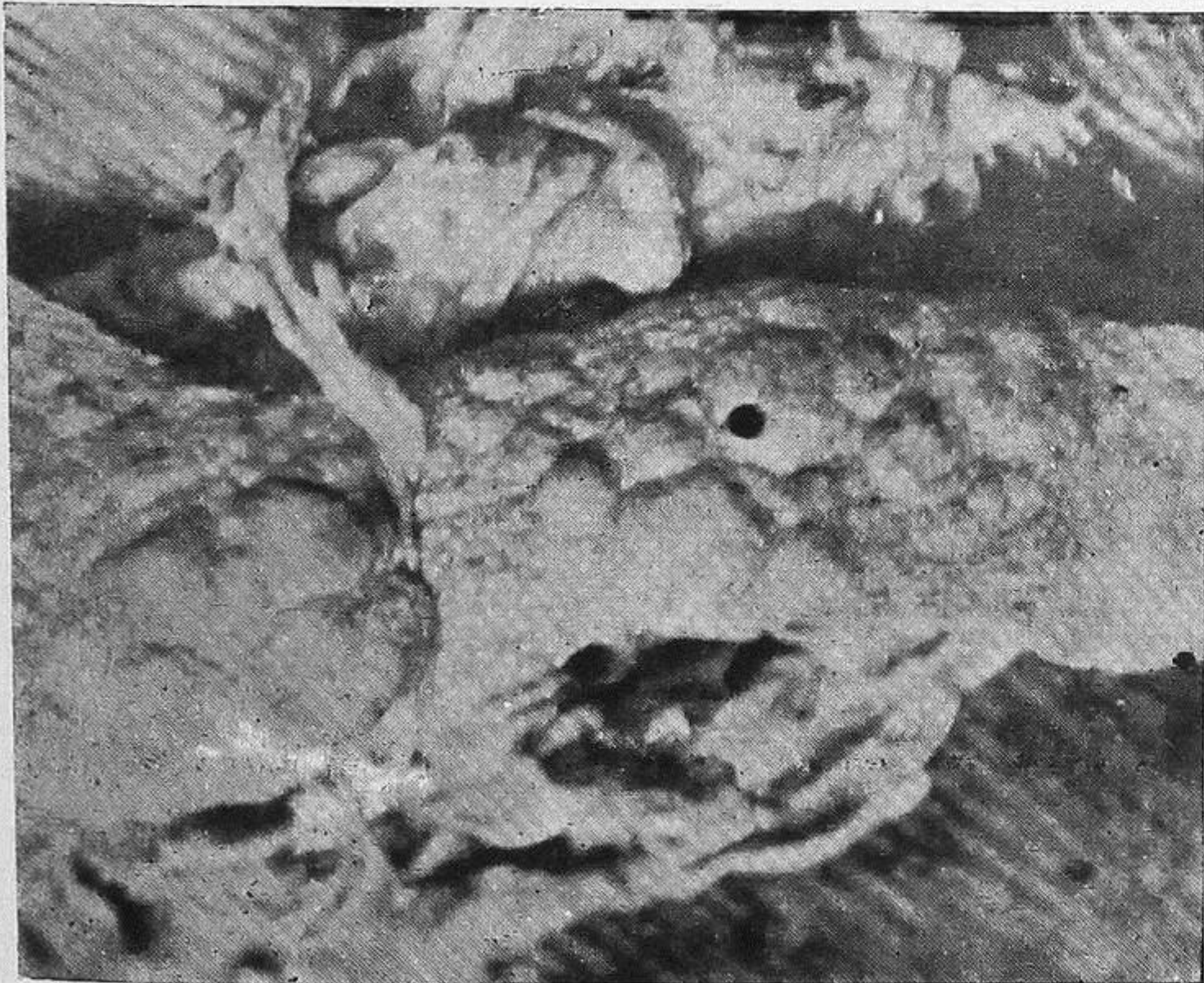
Fig. 1.
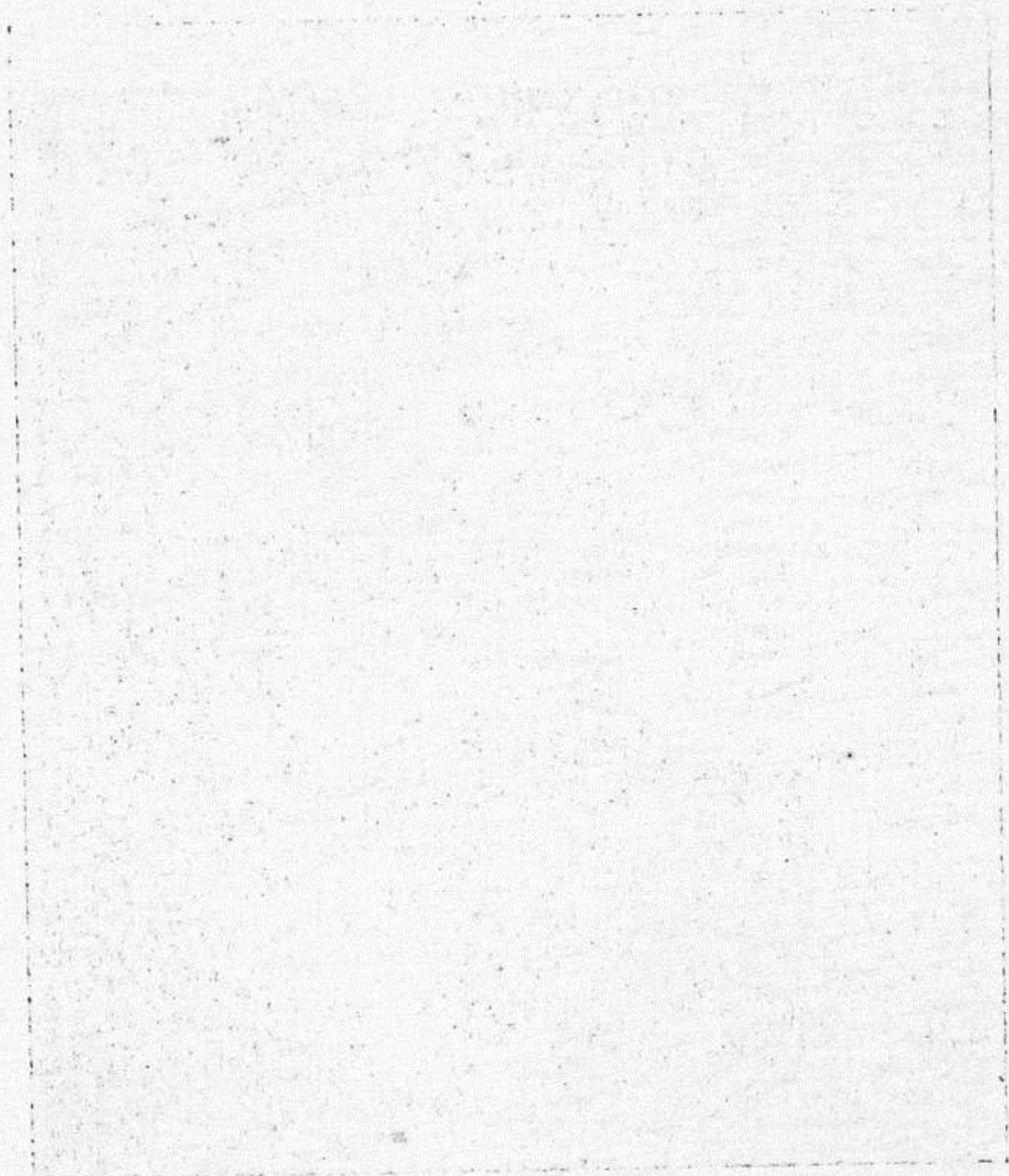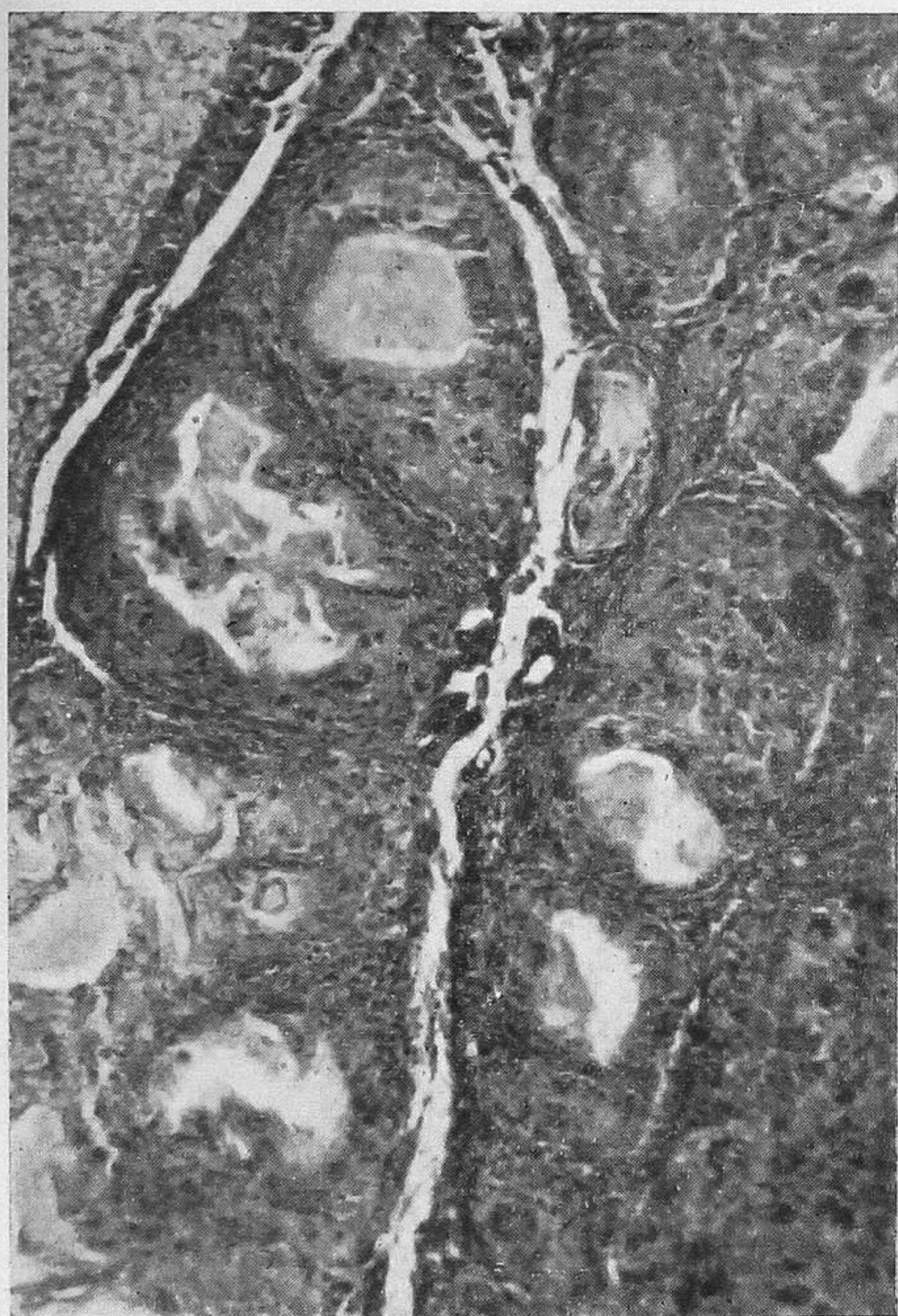
Fig. 2.
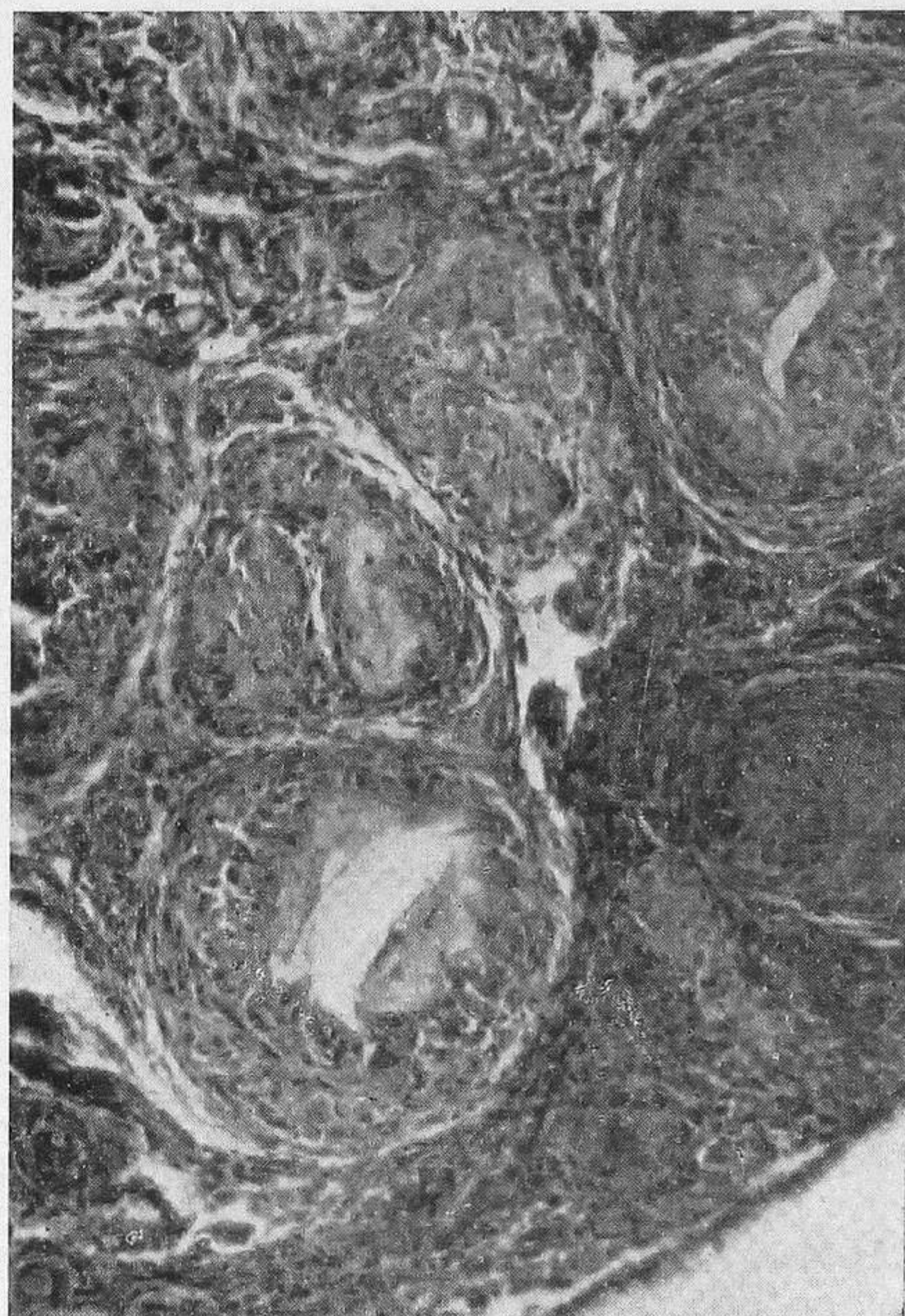
Fig. 3.
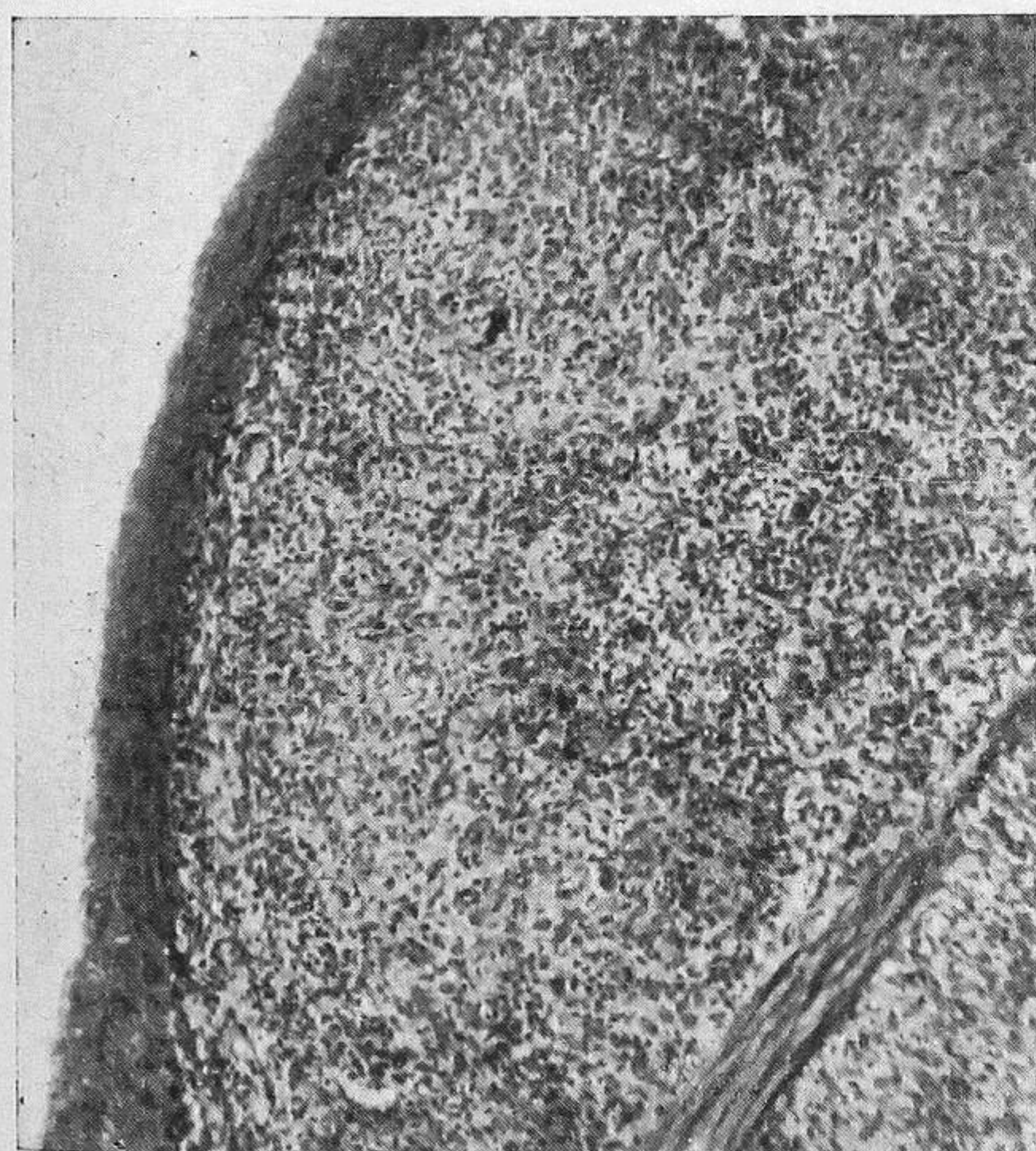
Fig. 4.
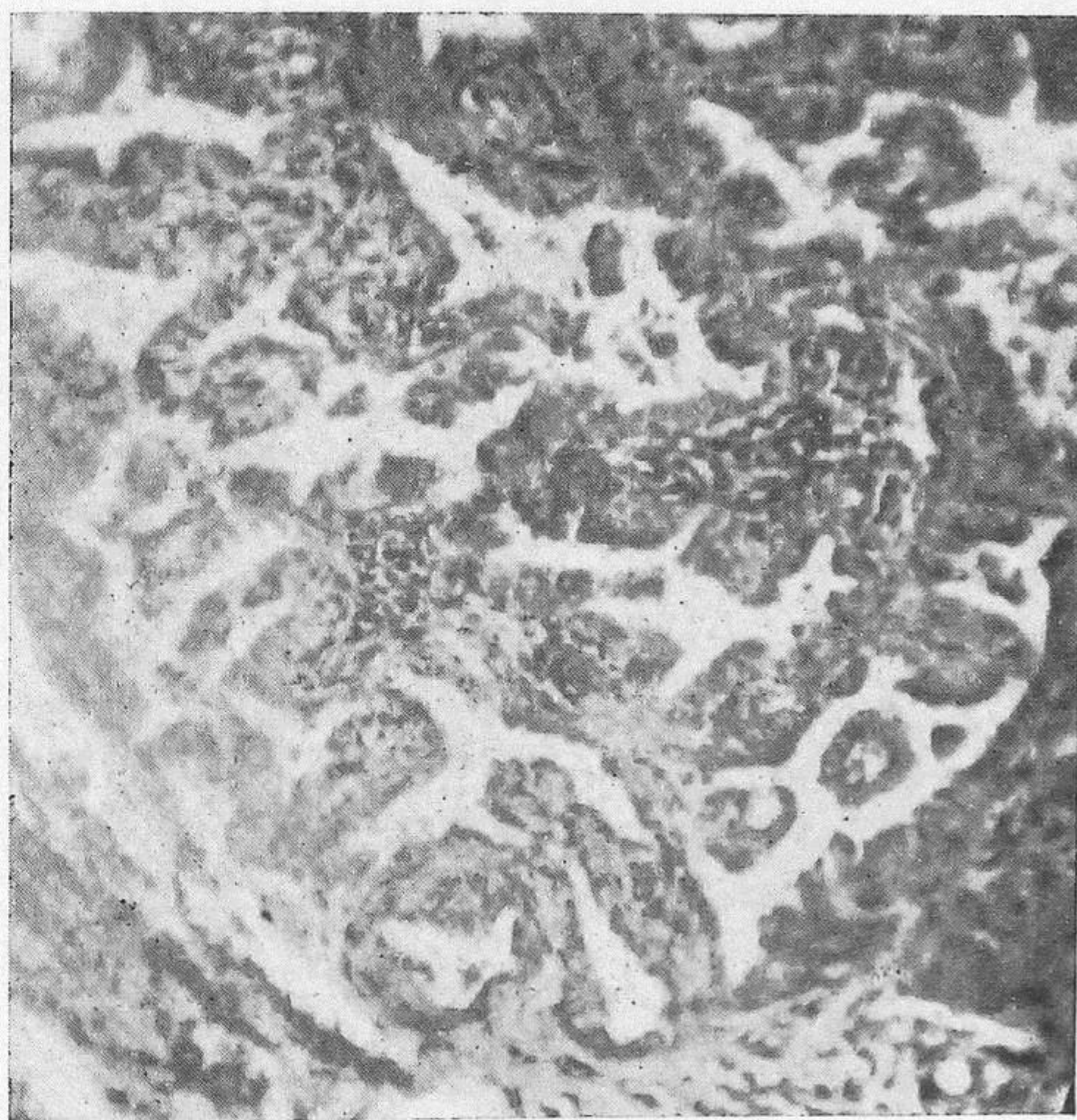
Fig. 5.
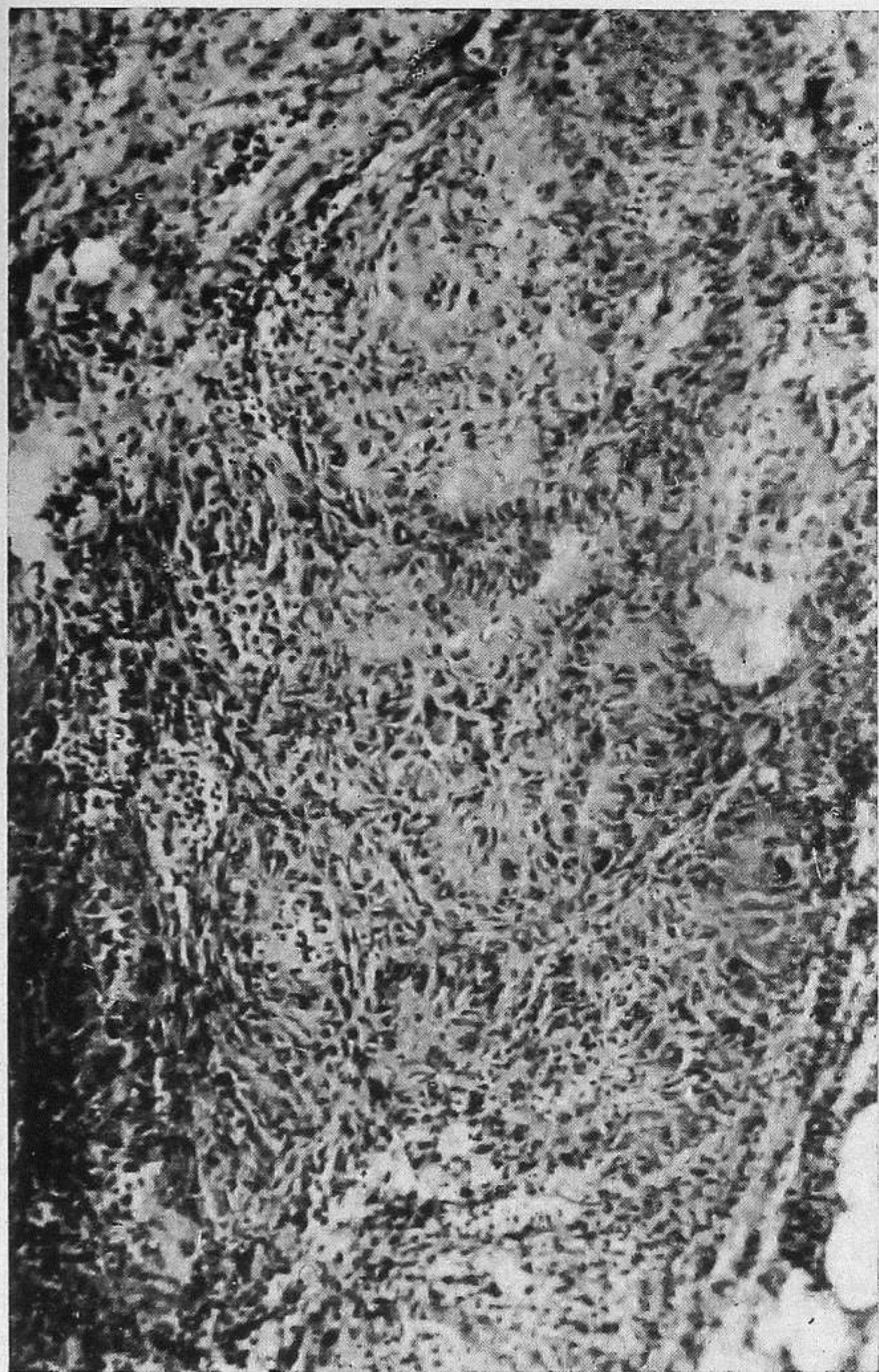
Fig. 1.
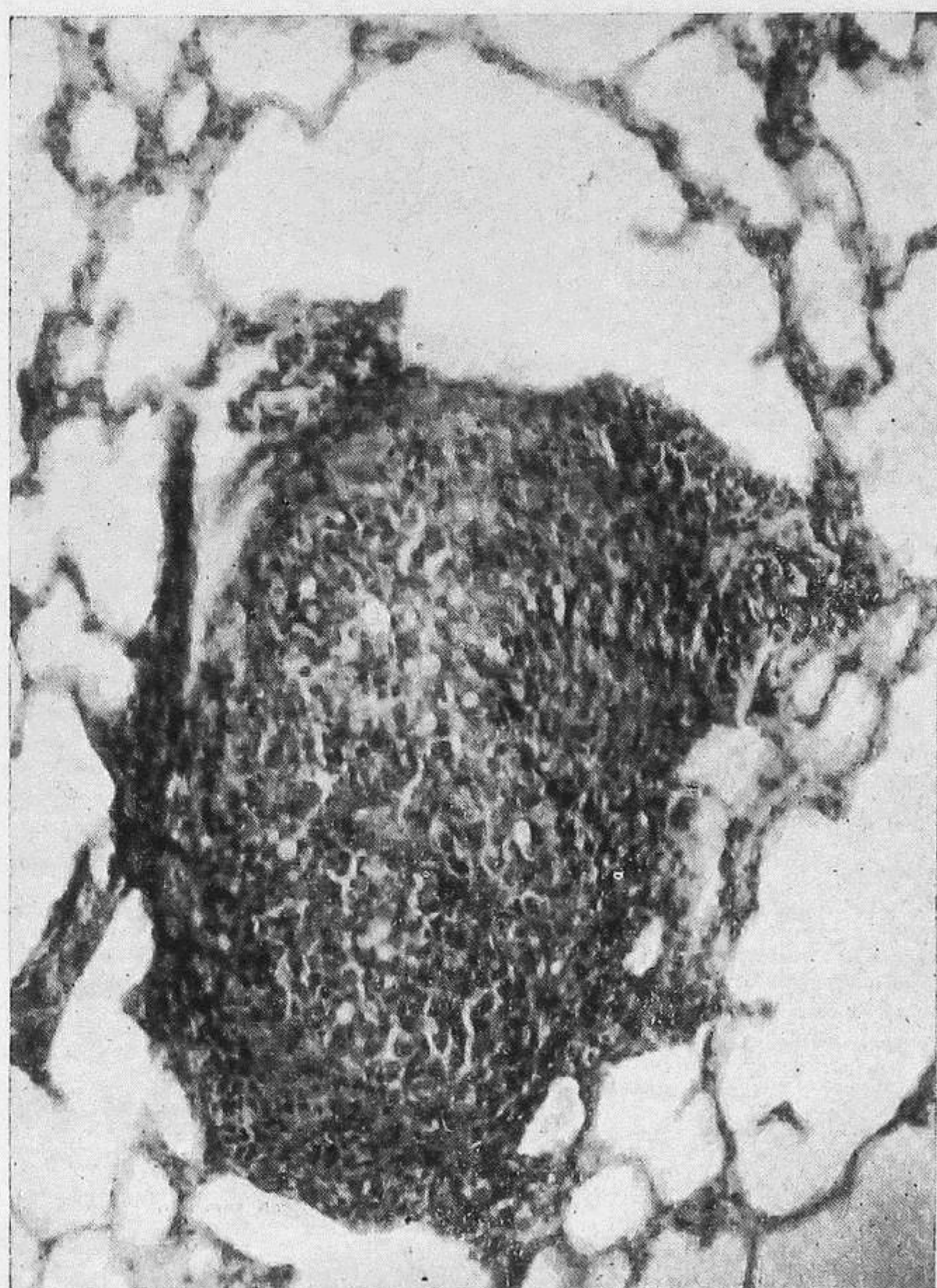
Fig. 2.
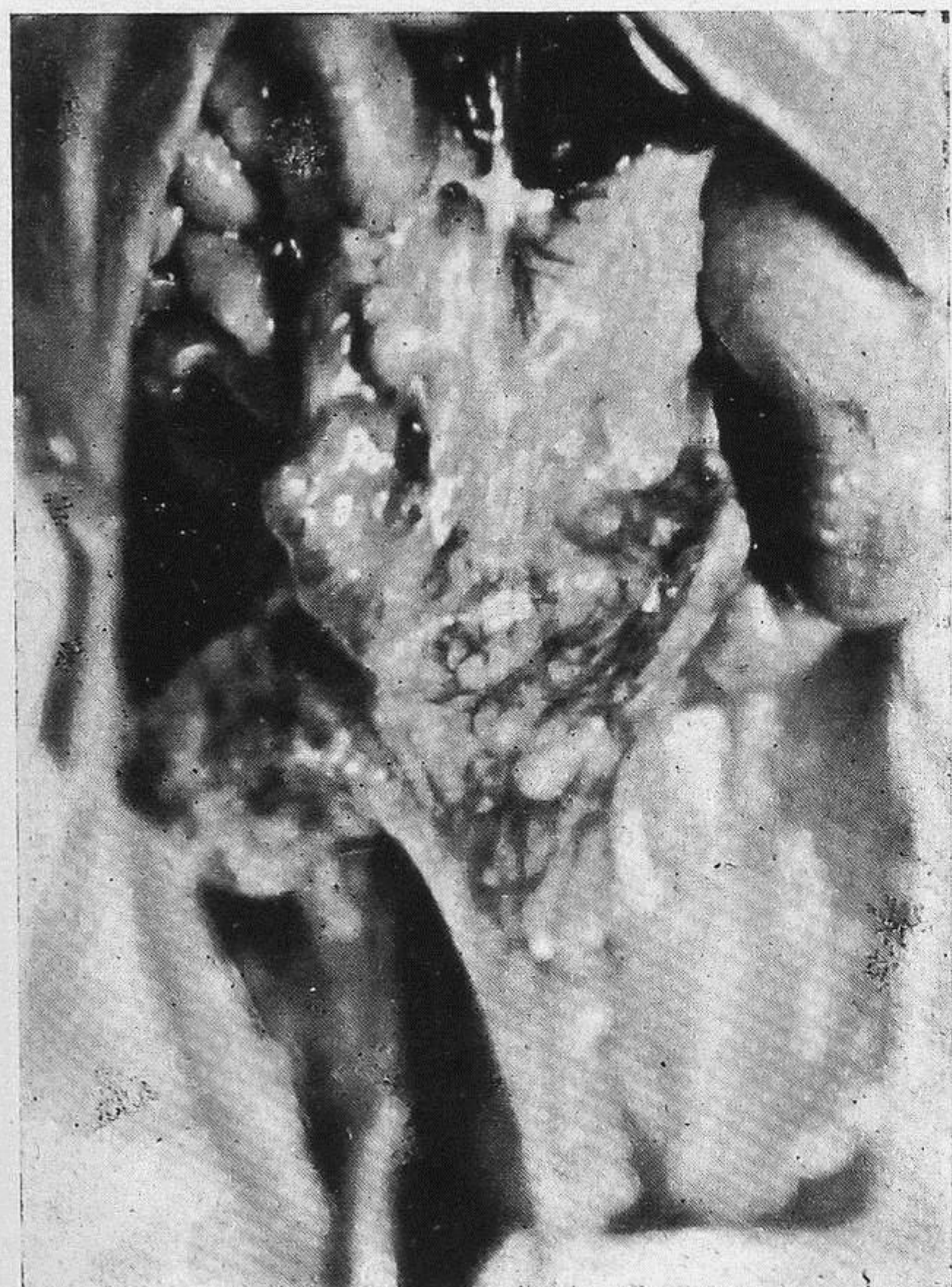
Fig. 3.
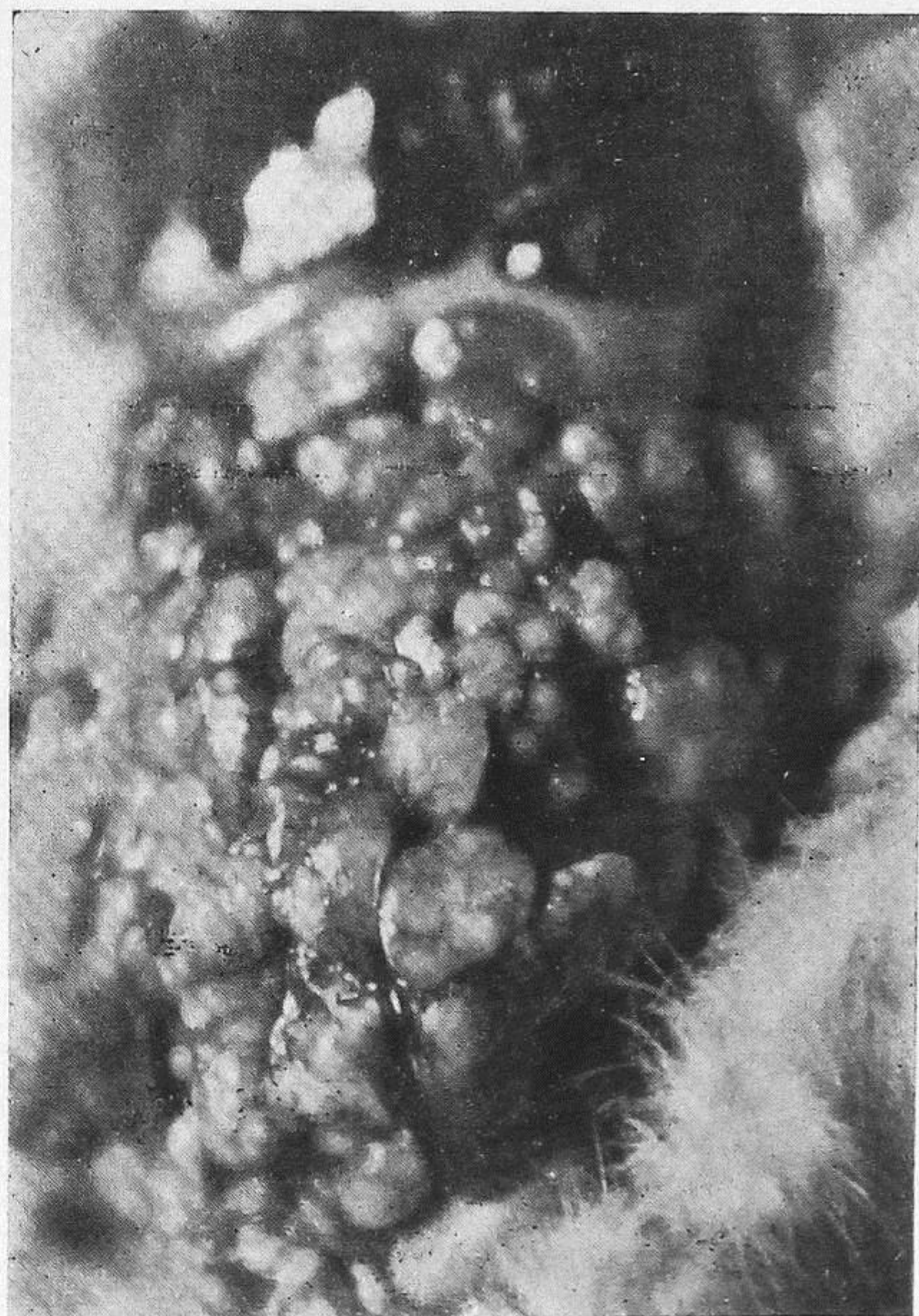
Fig. 4,

Fig. 1.

Fig. 2.
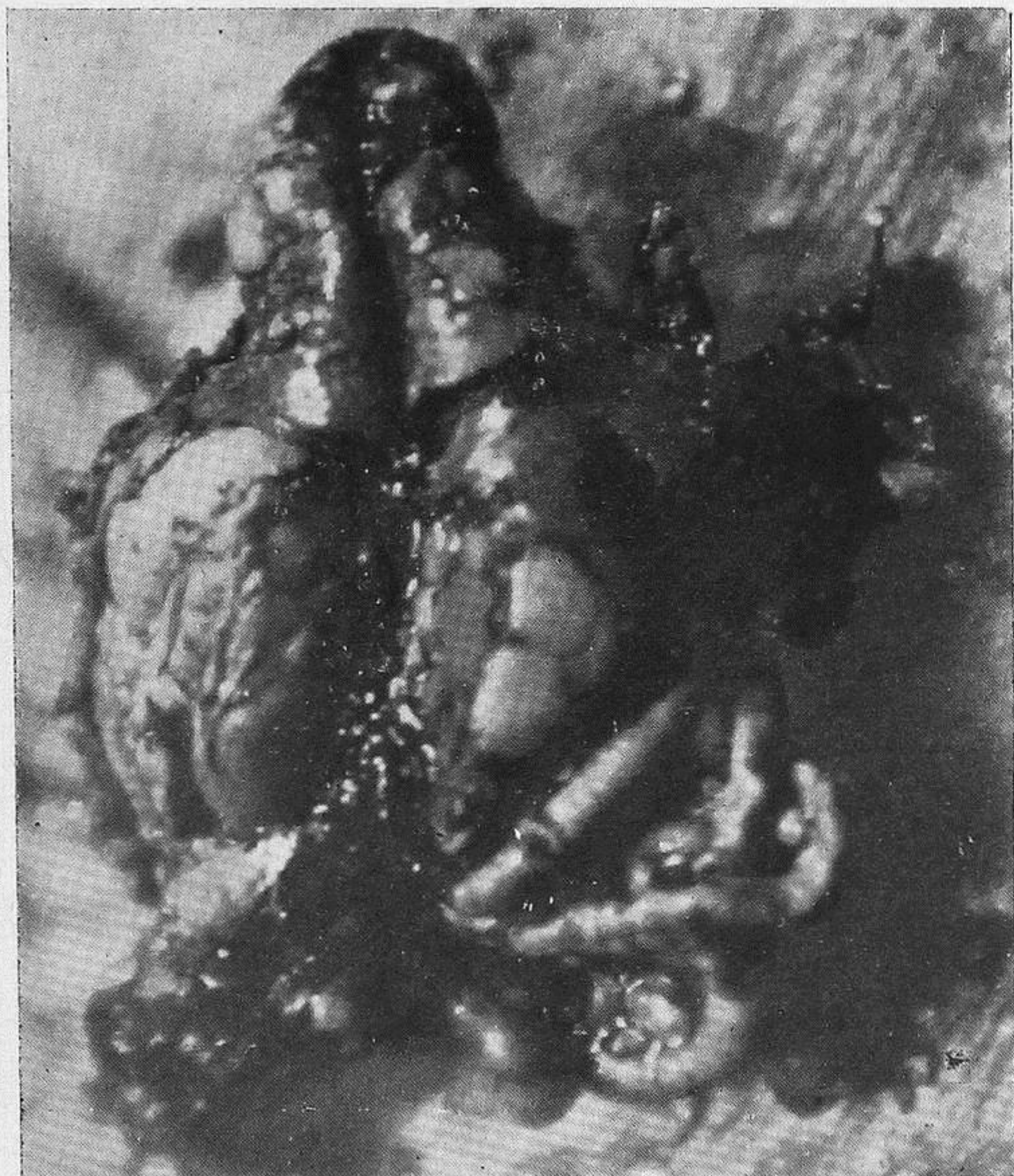
Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 3

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.
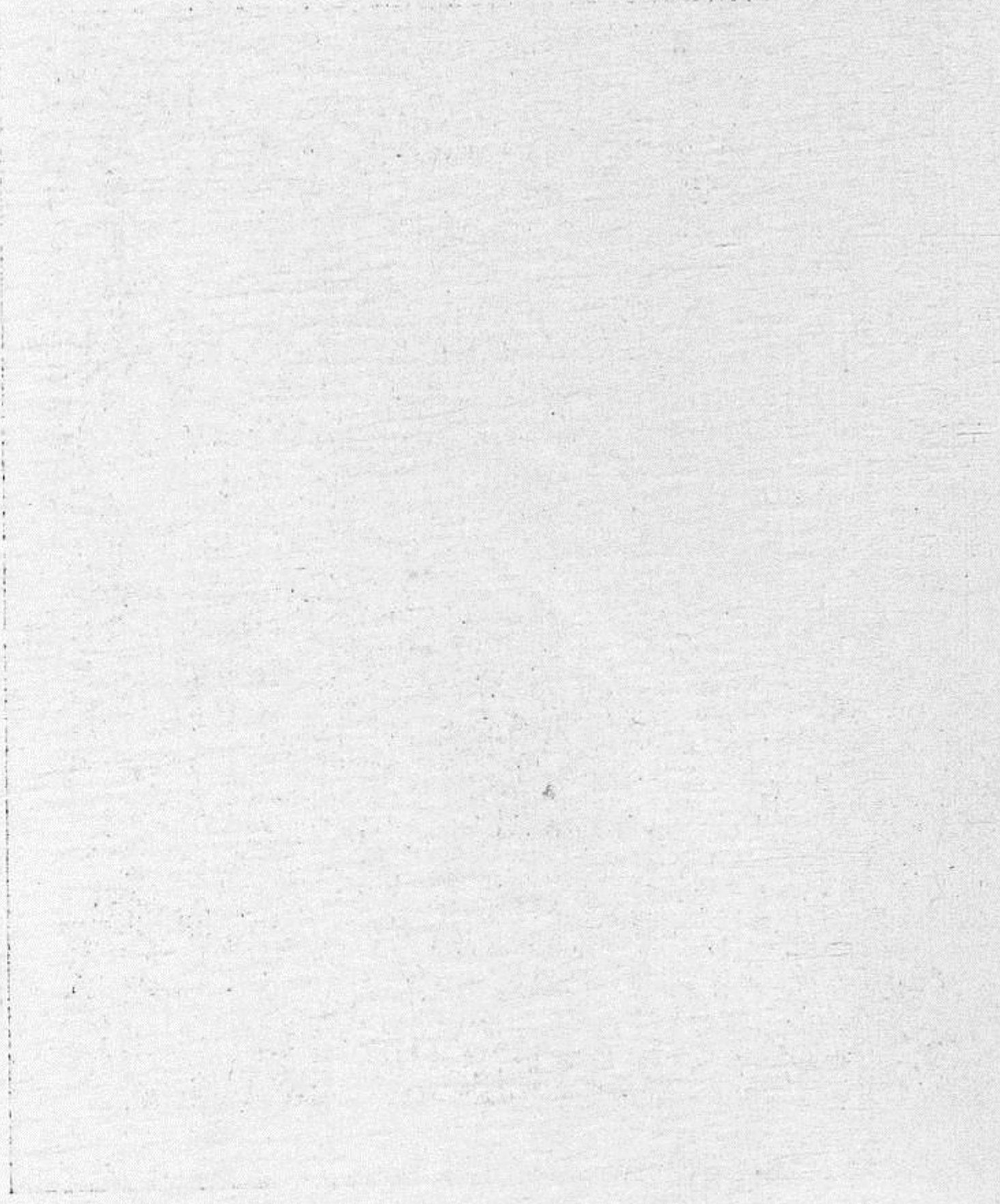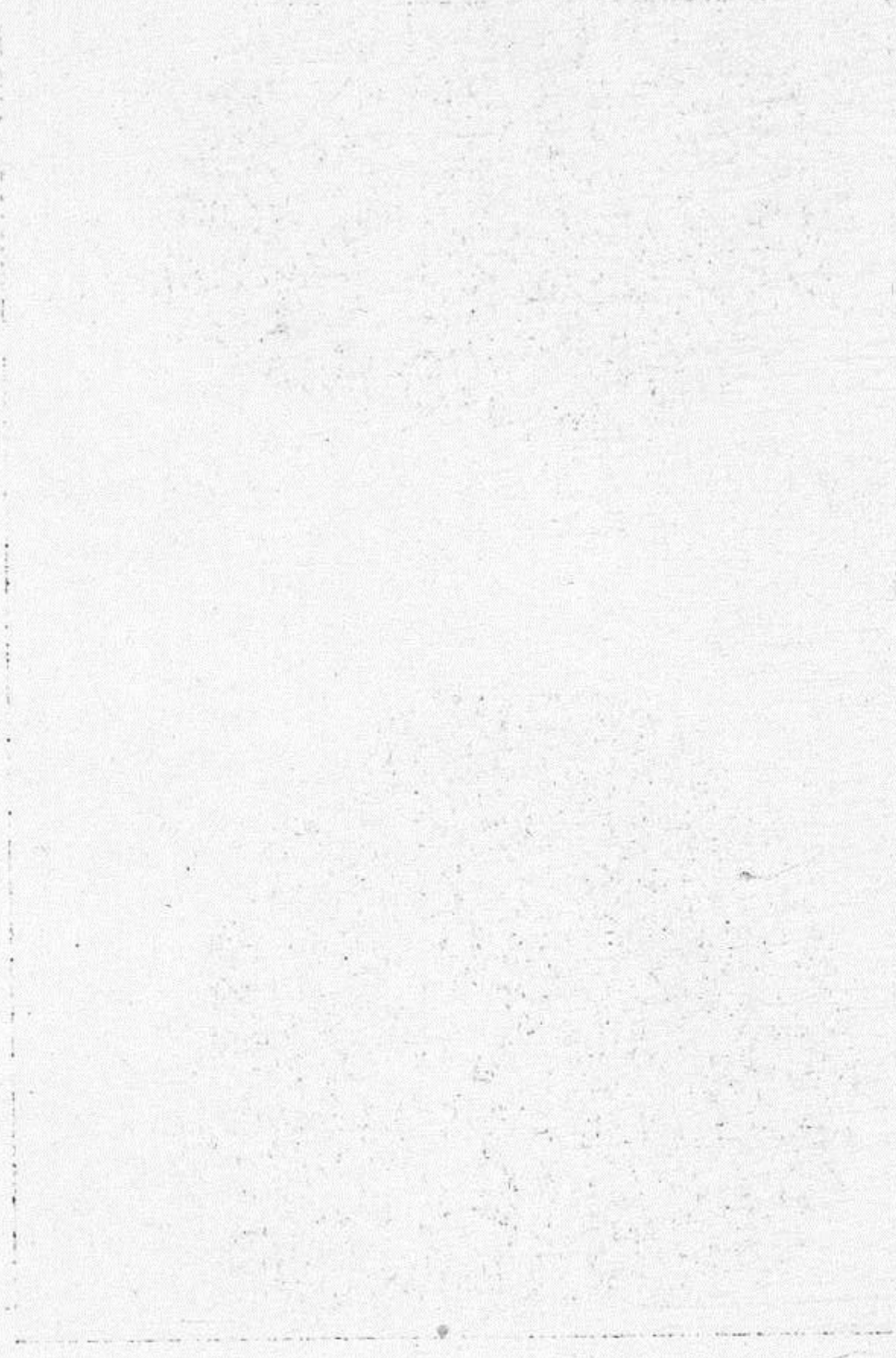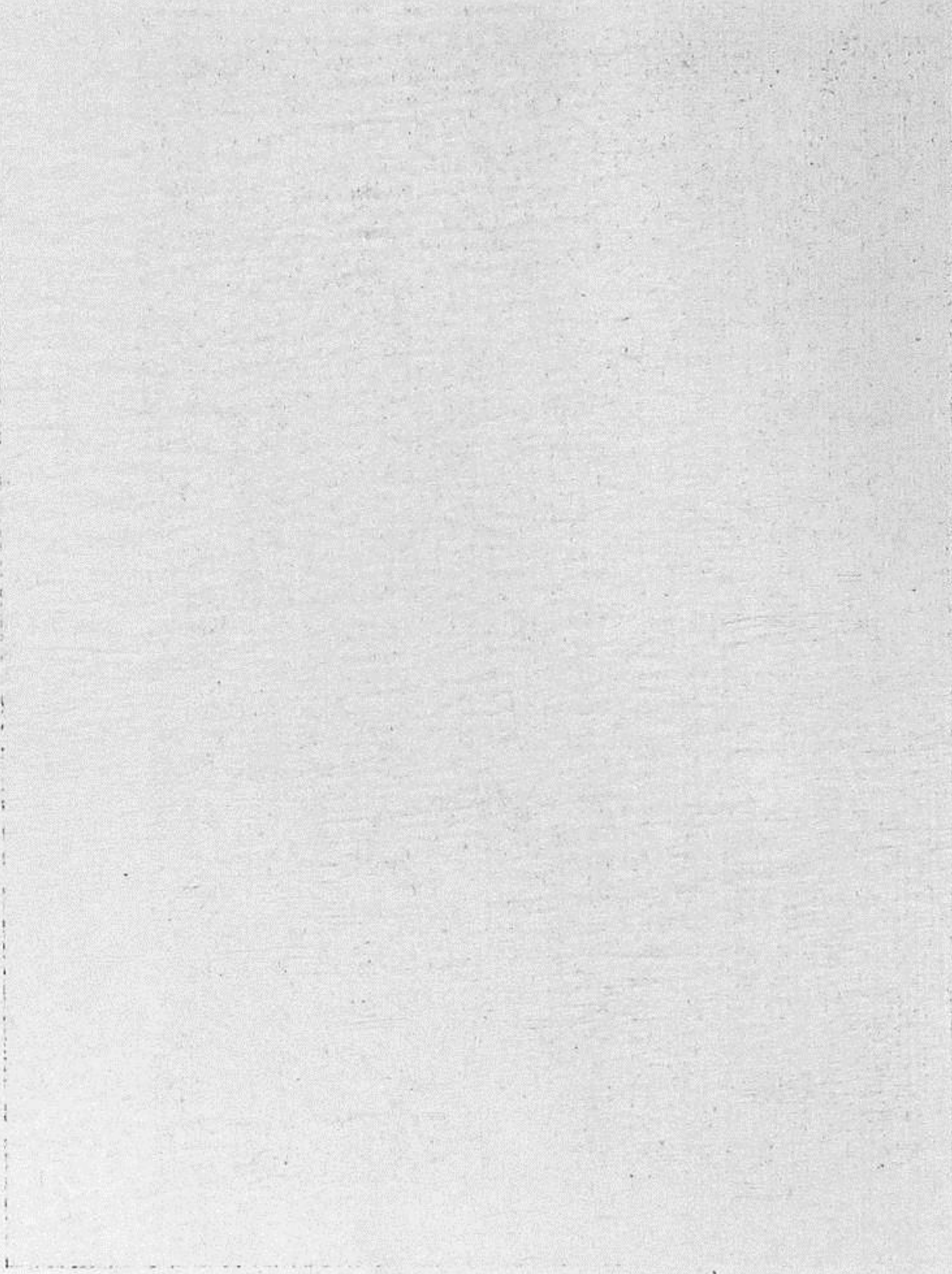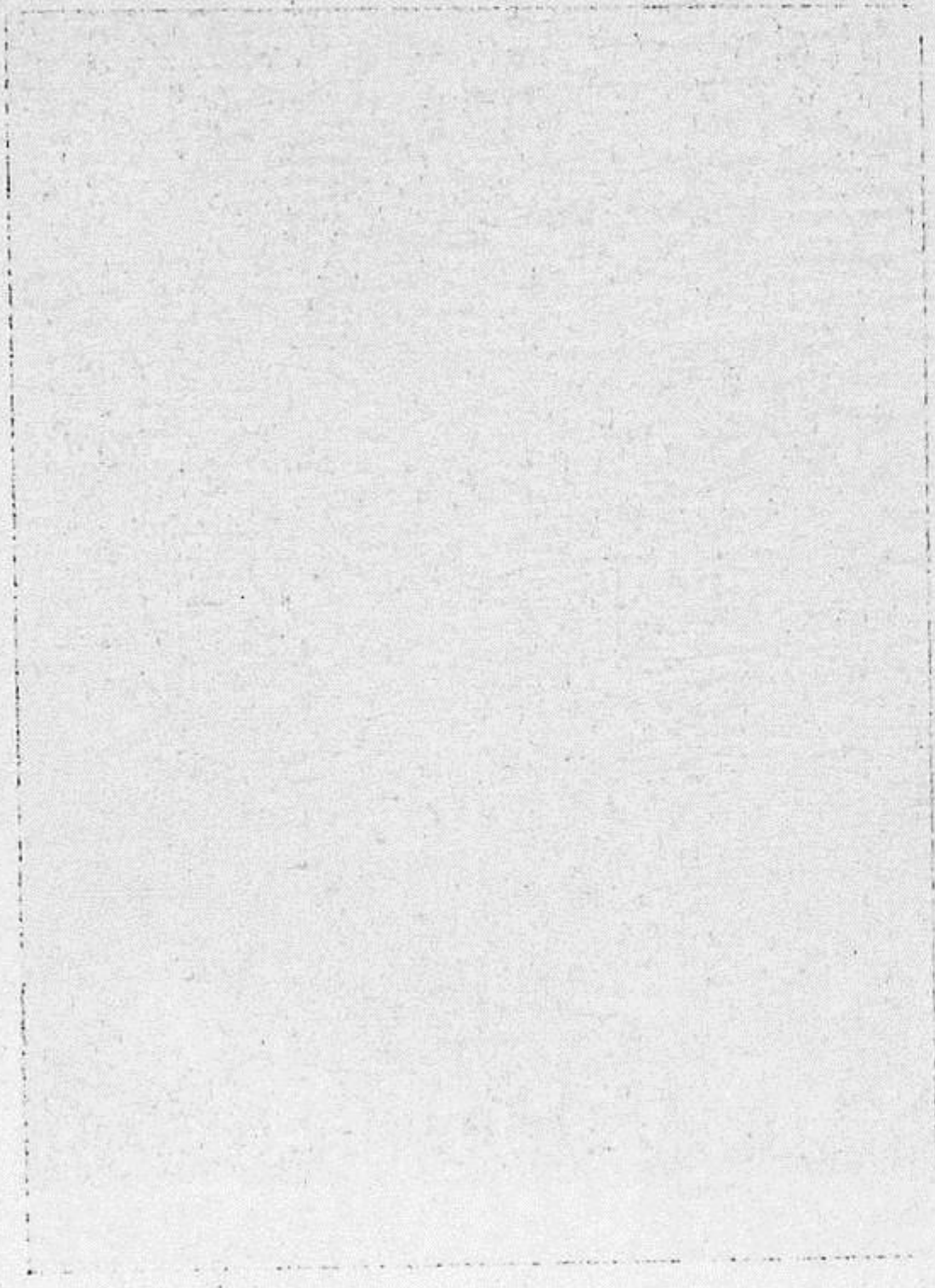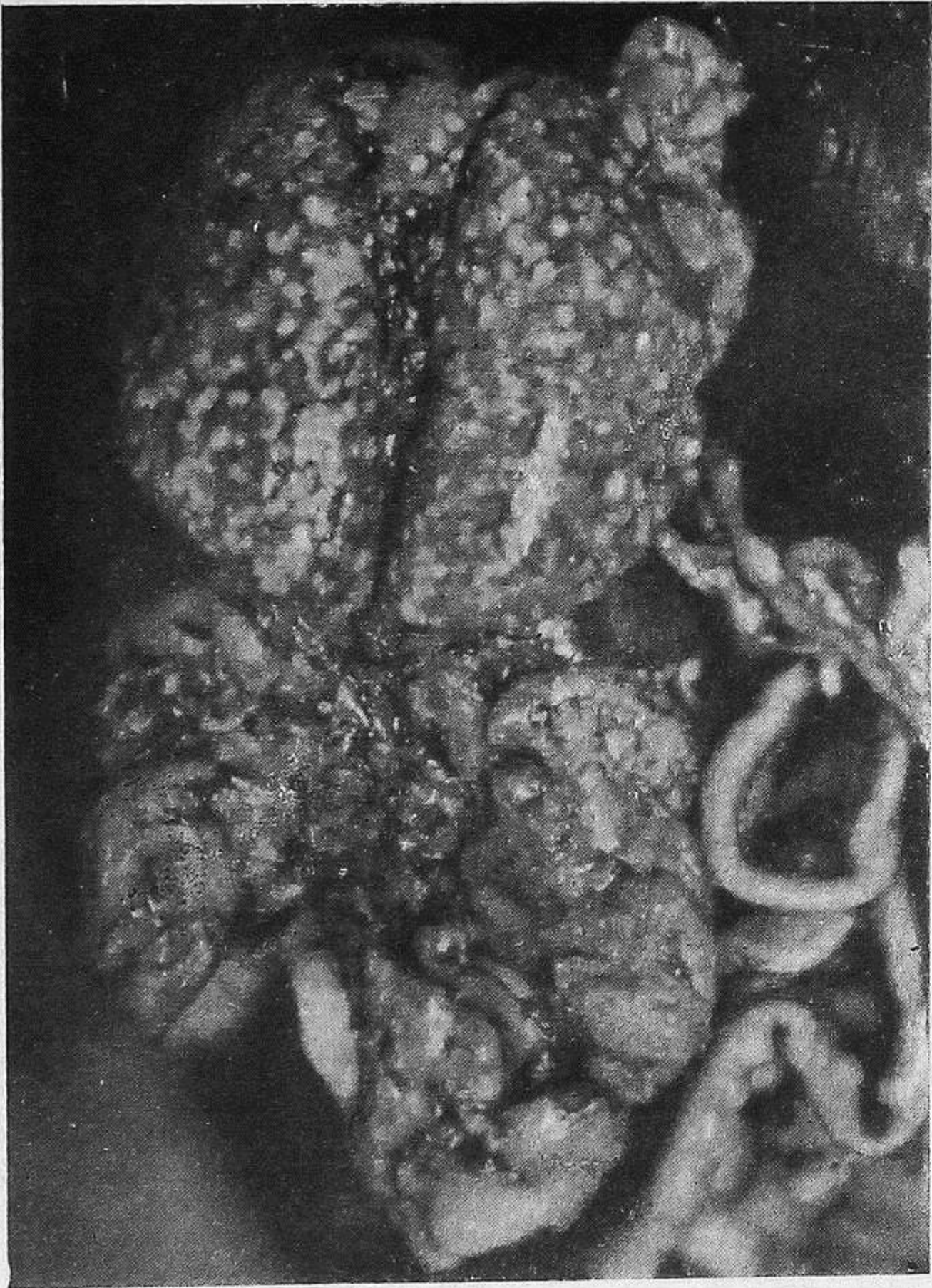
Fig. 1.
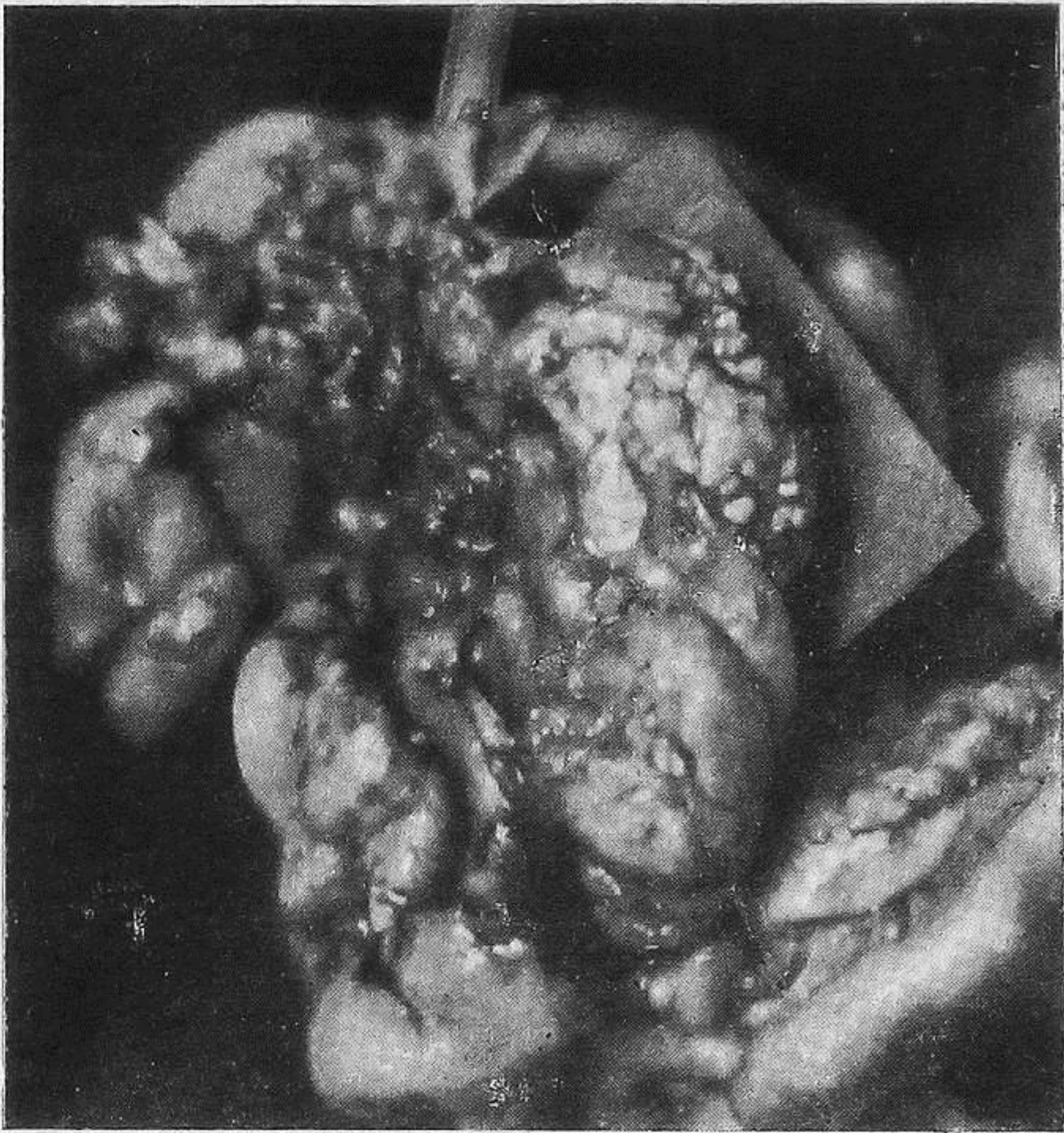
Fig. 2.
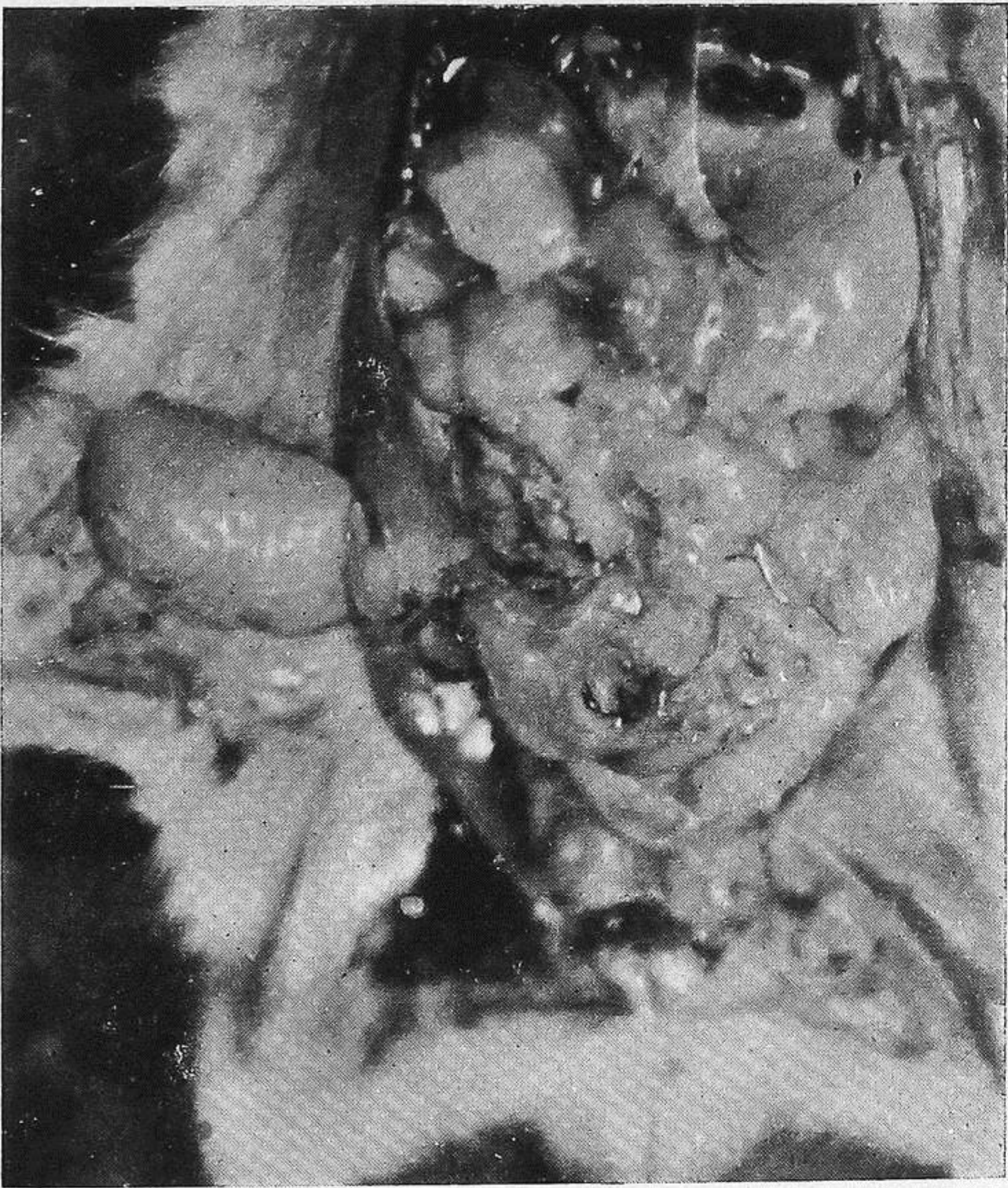
Fig. 4.
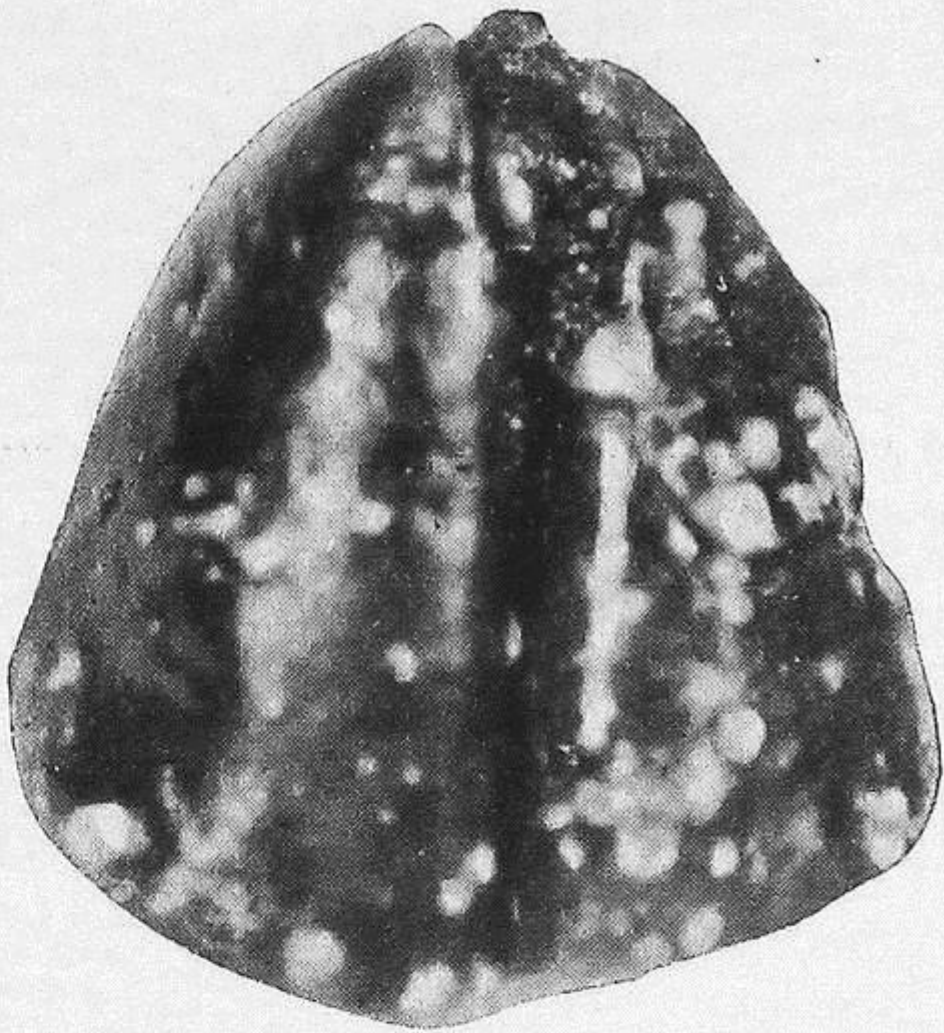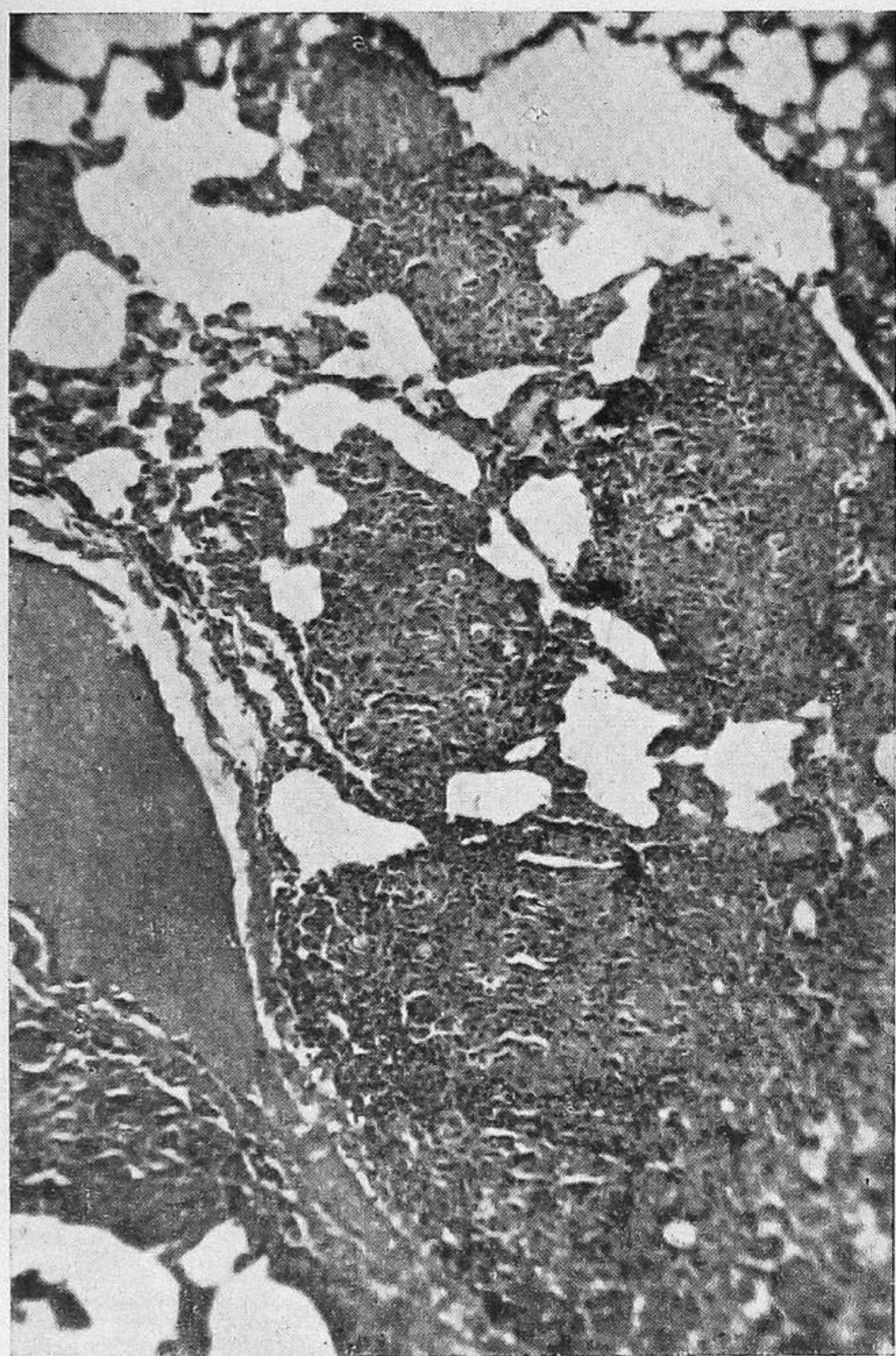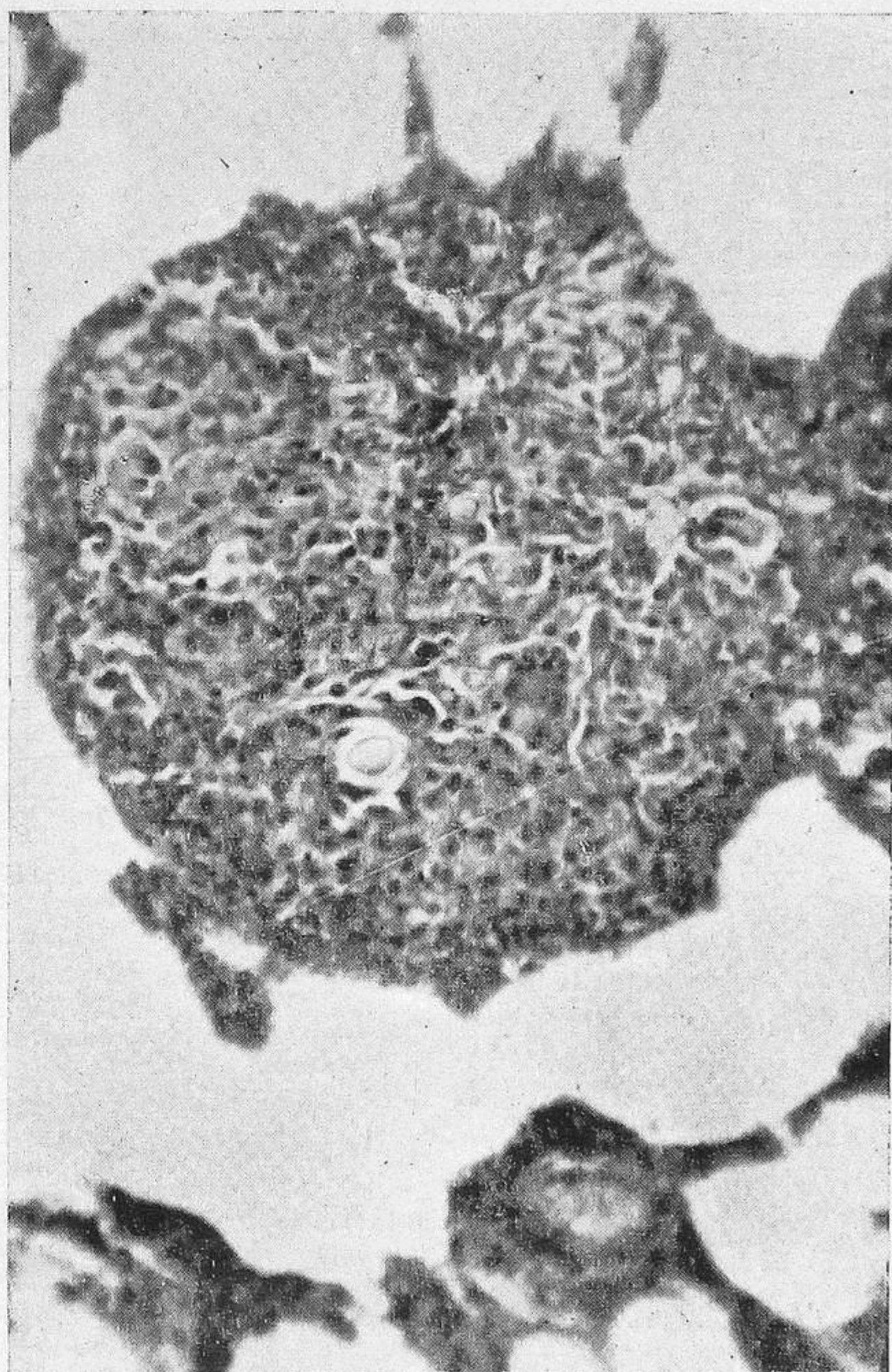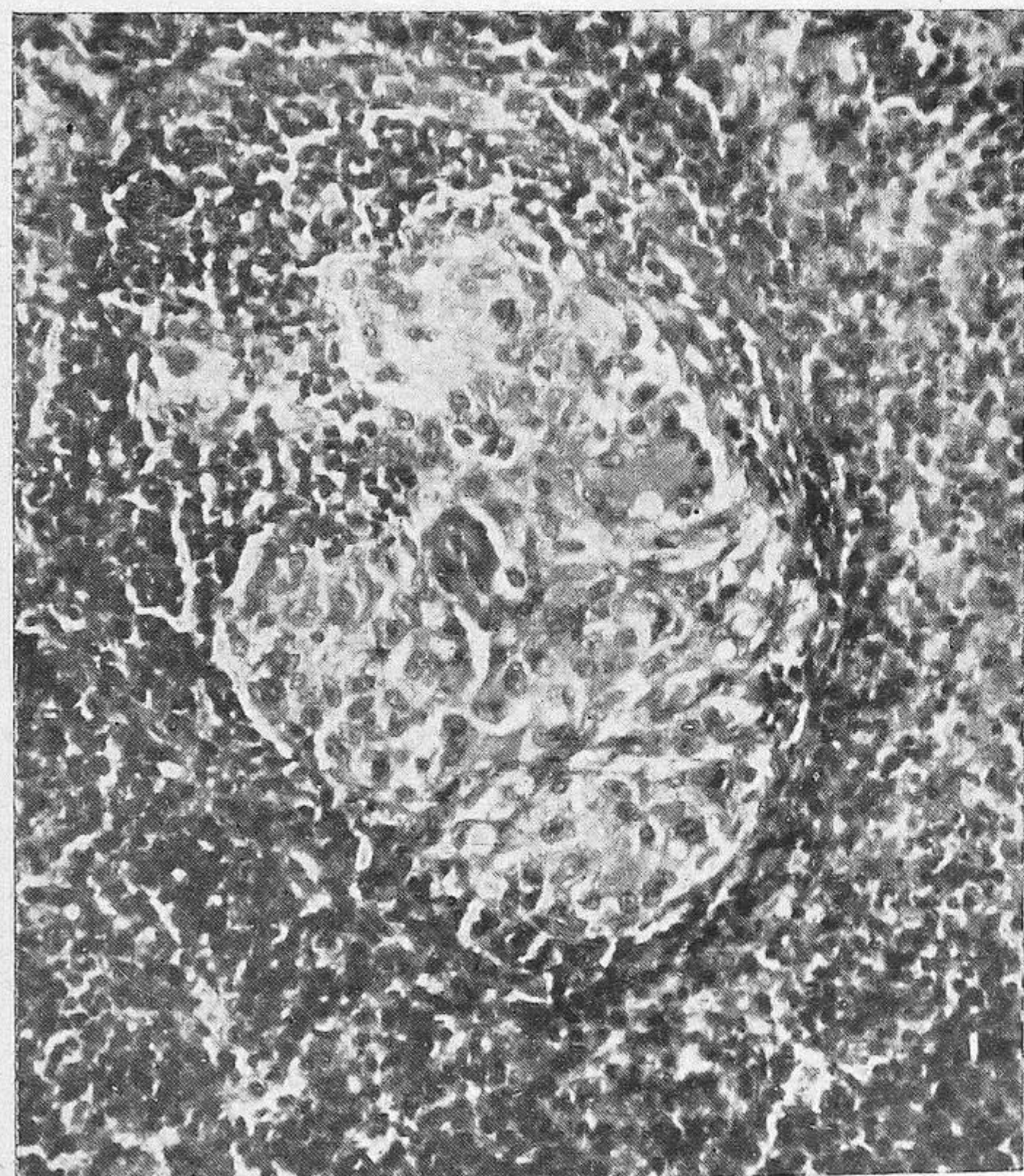
Fig. 3.
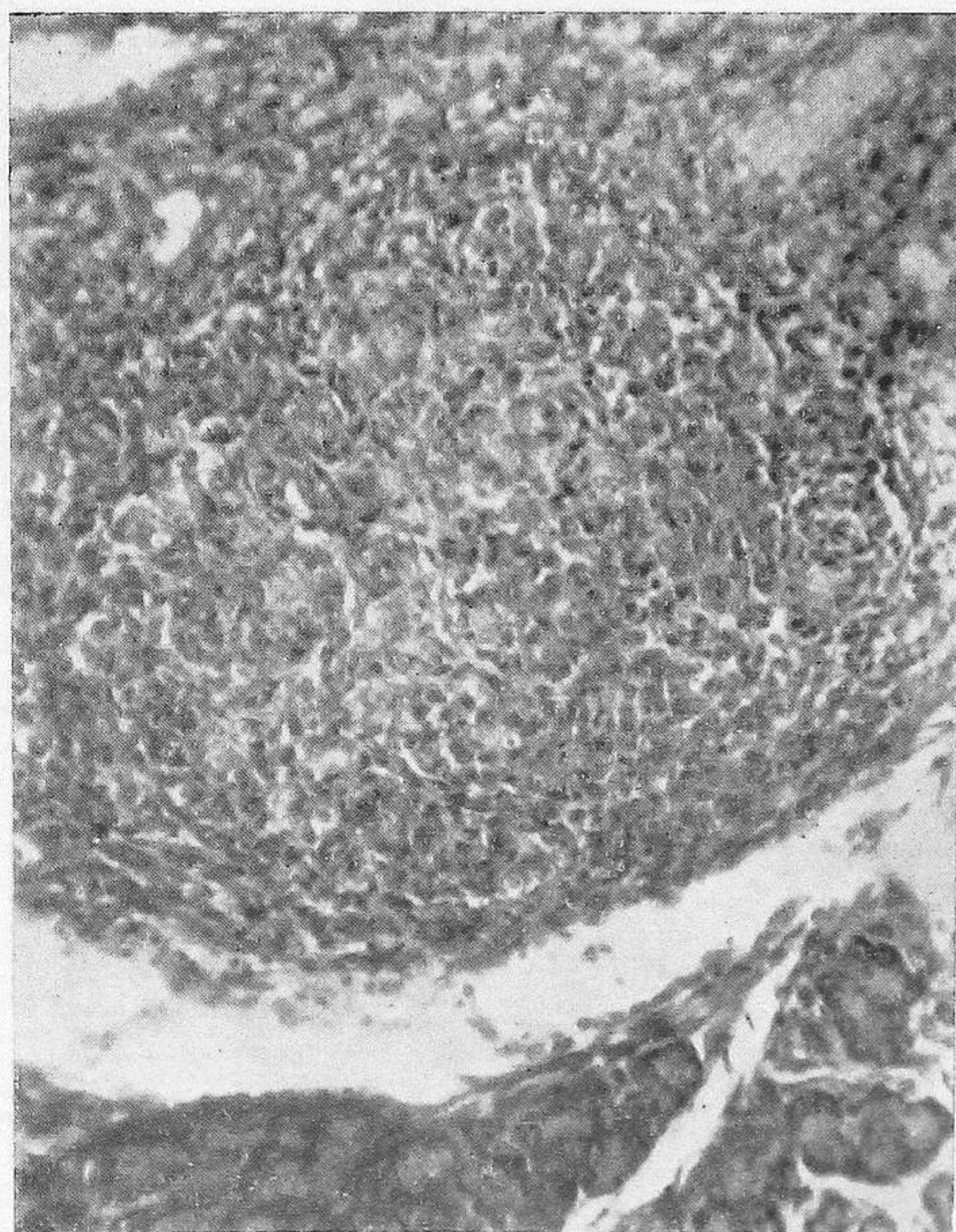
Fig. 5.
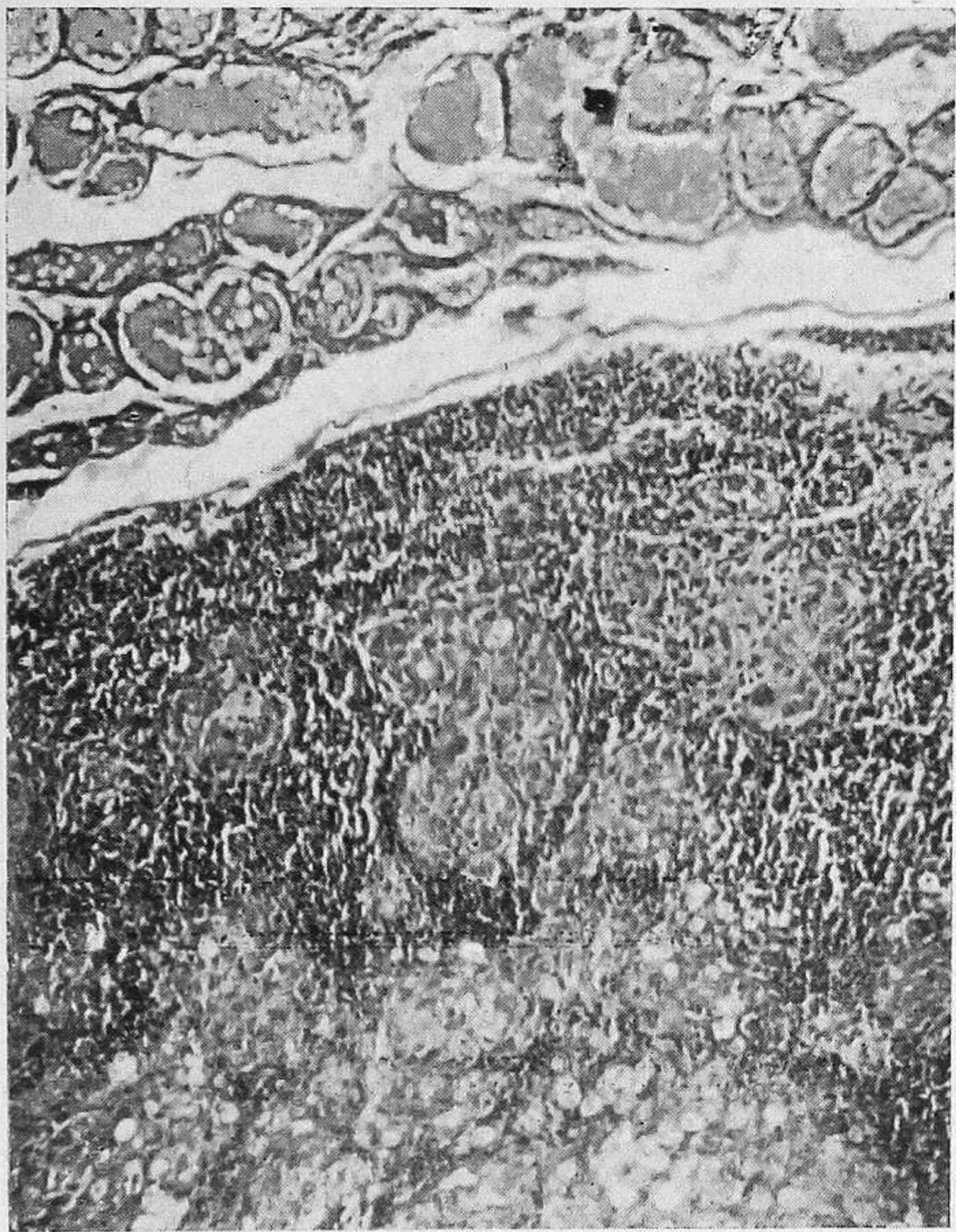
Fig. 1.
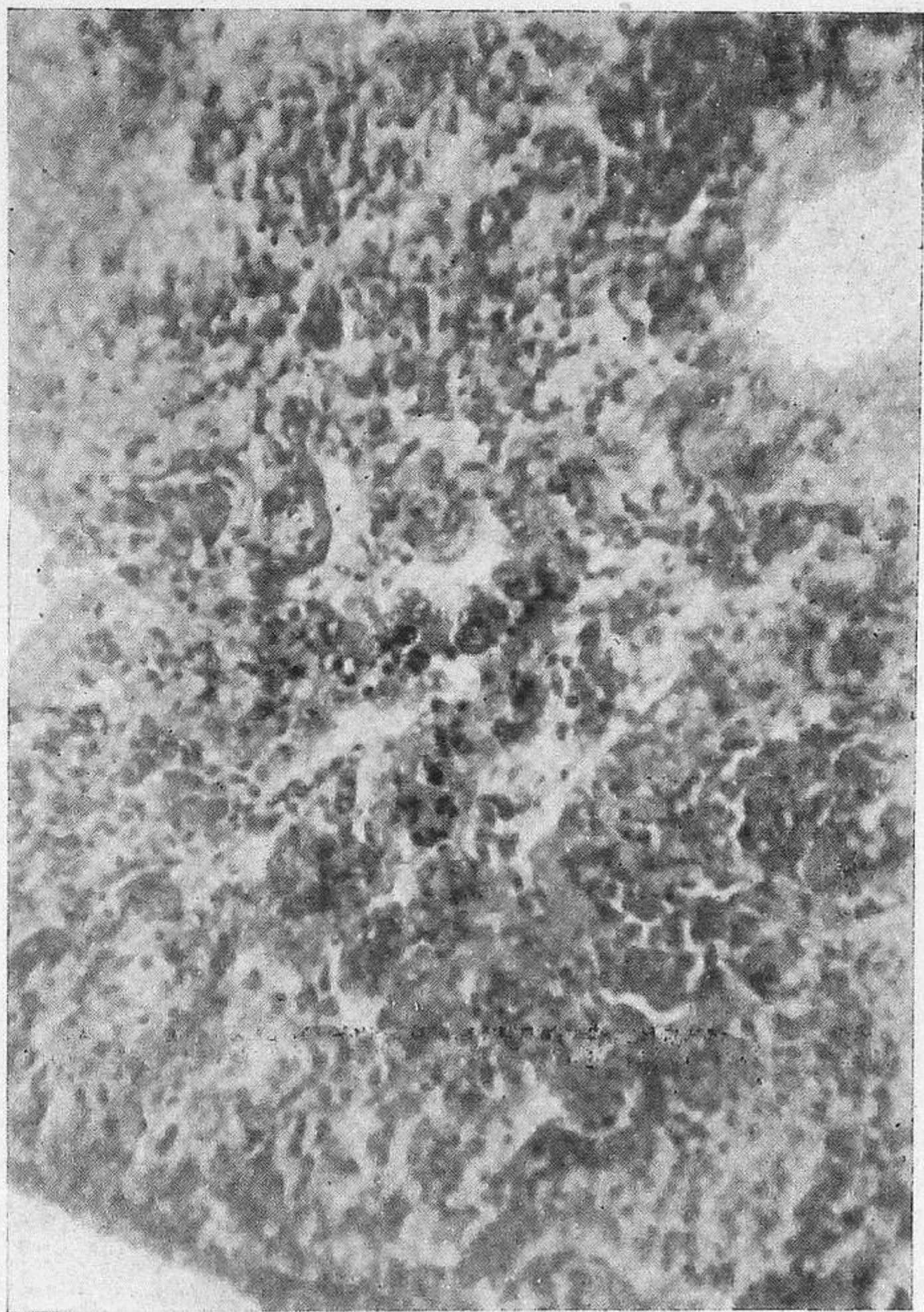
Fig. 2.
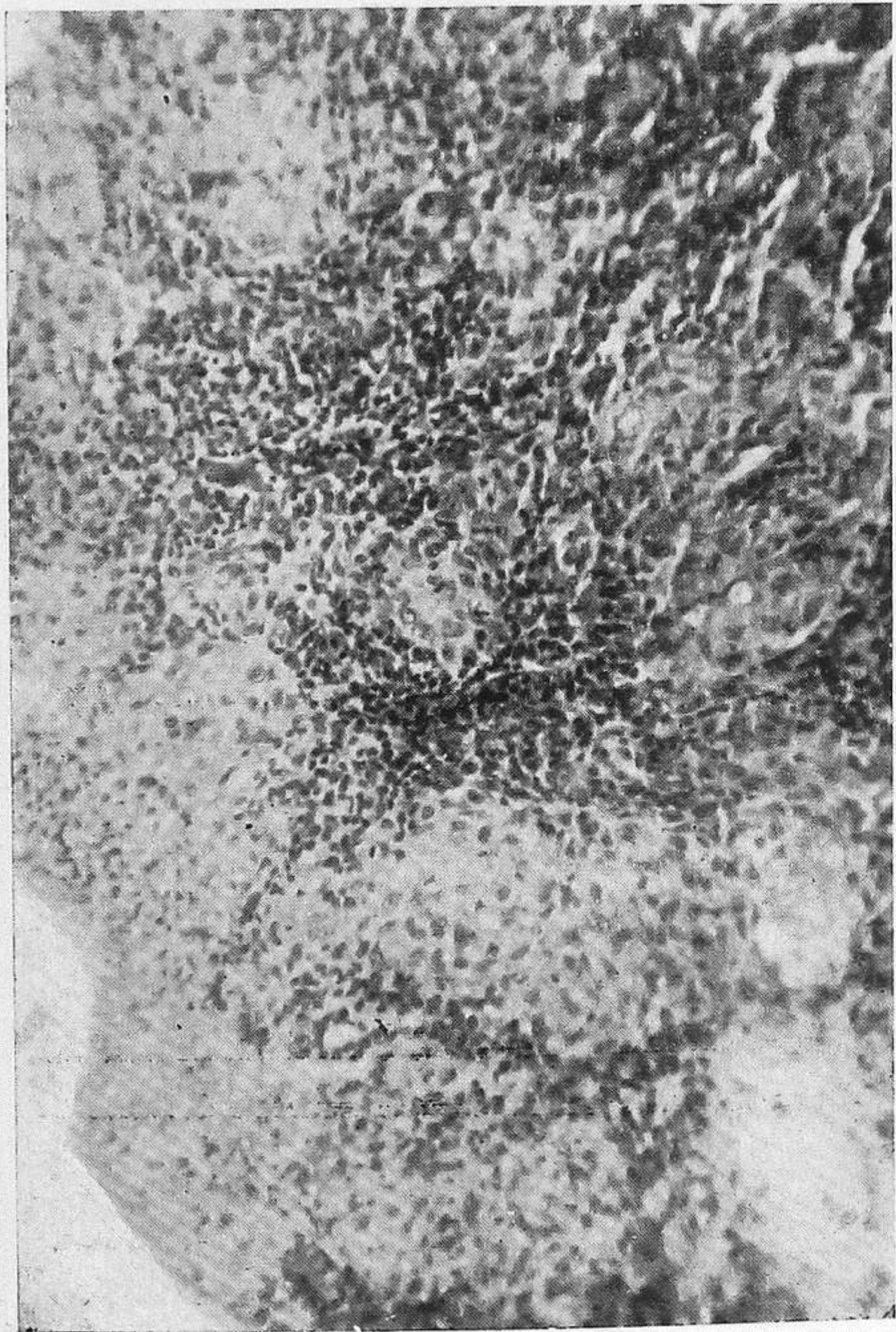
Fig. 3.
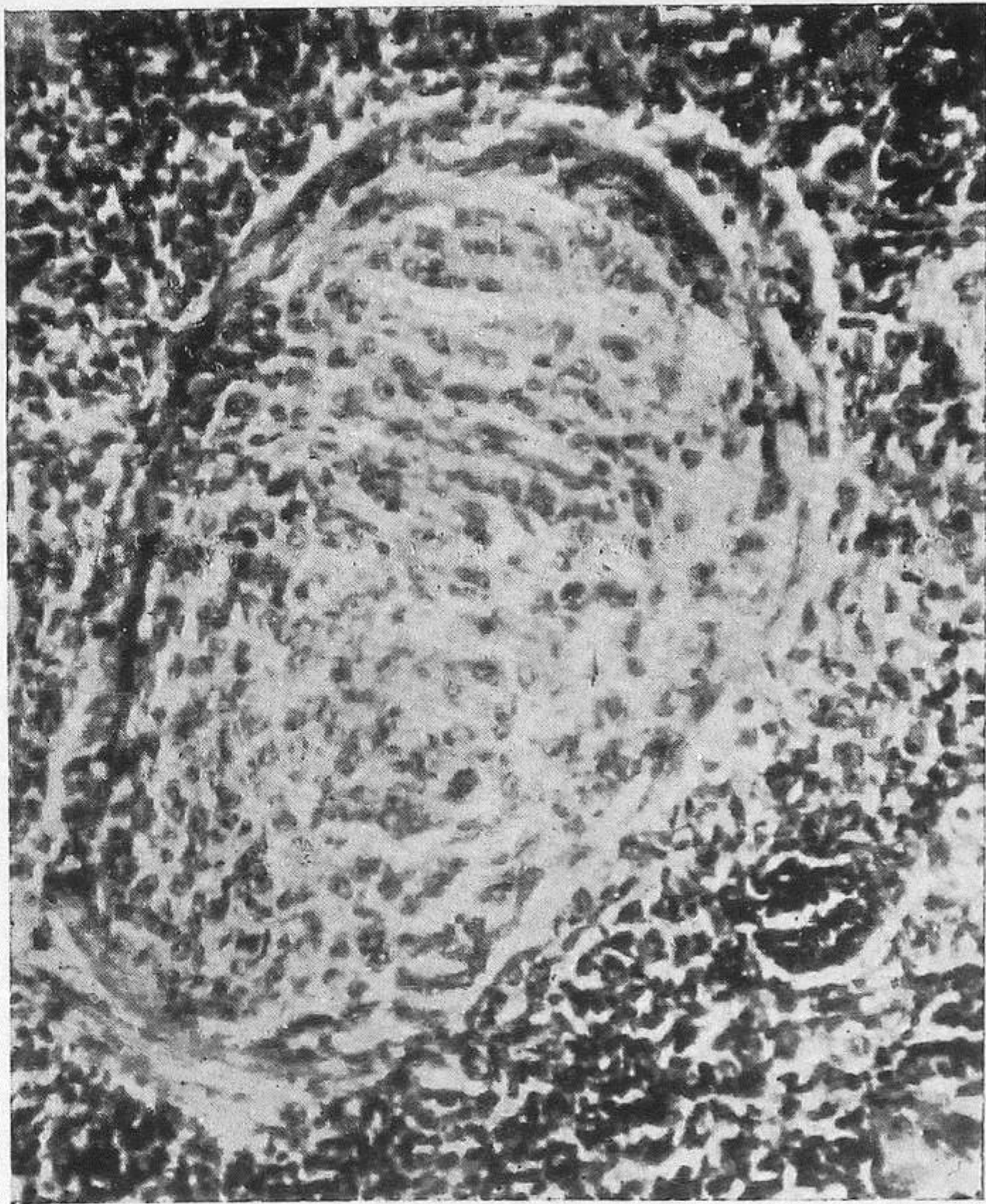
Fig. 4.
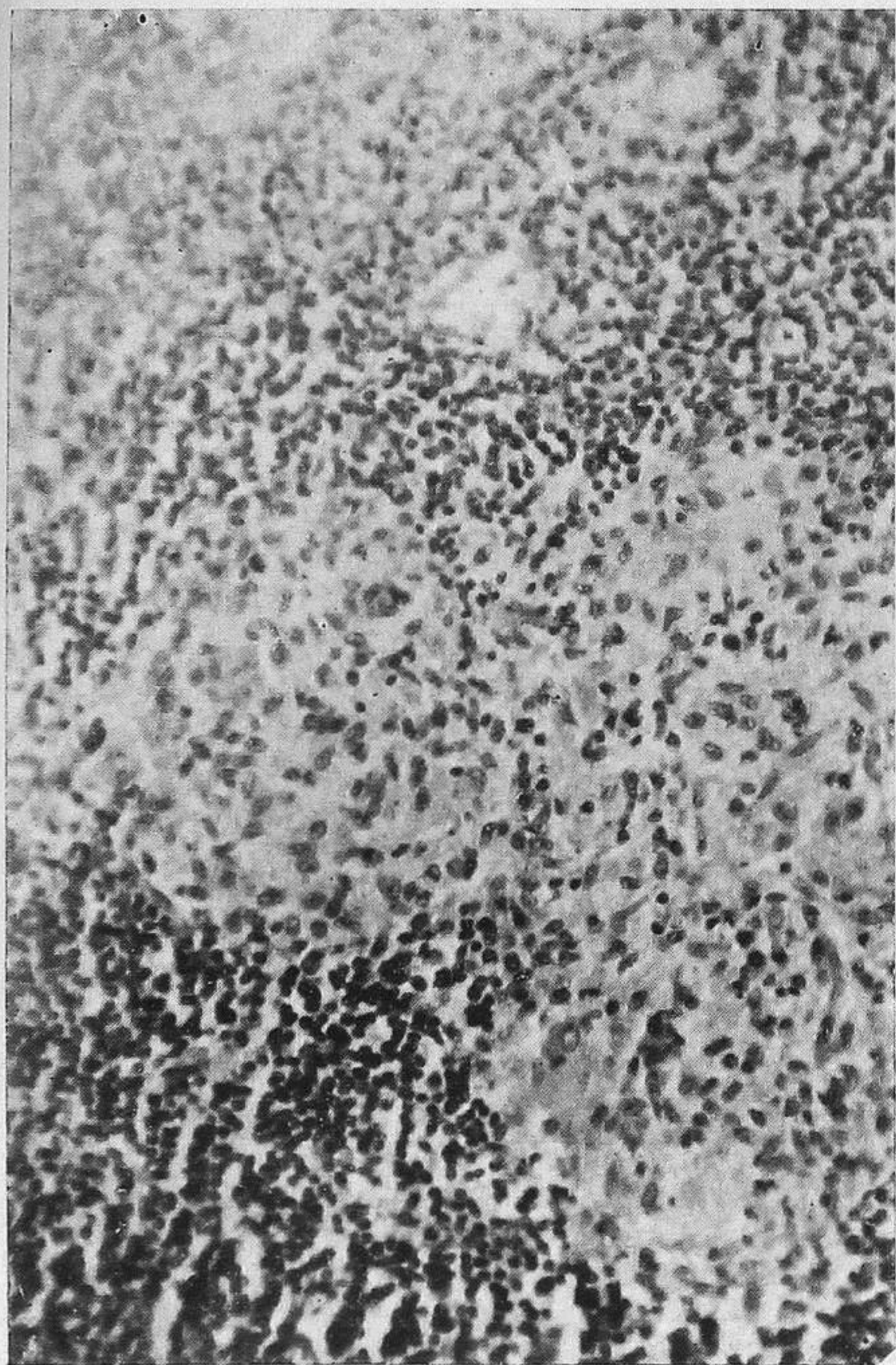
Fig. 1.
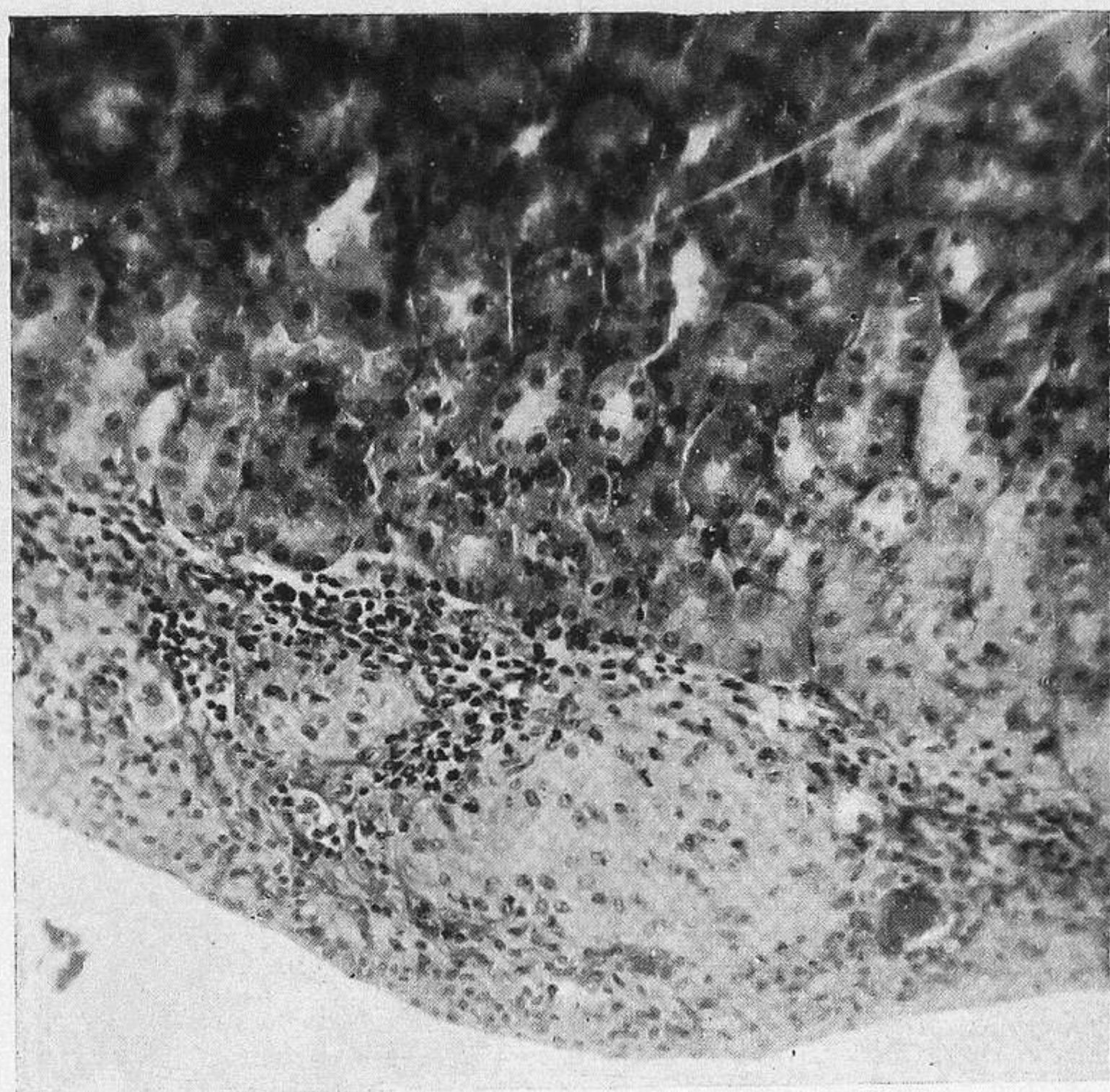
Fig 2.
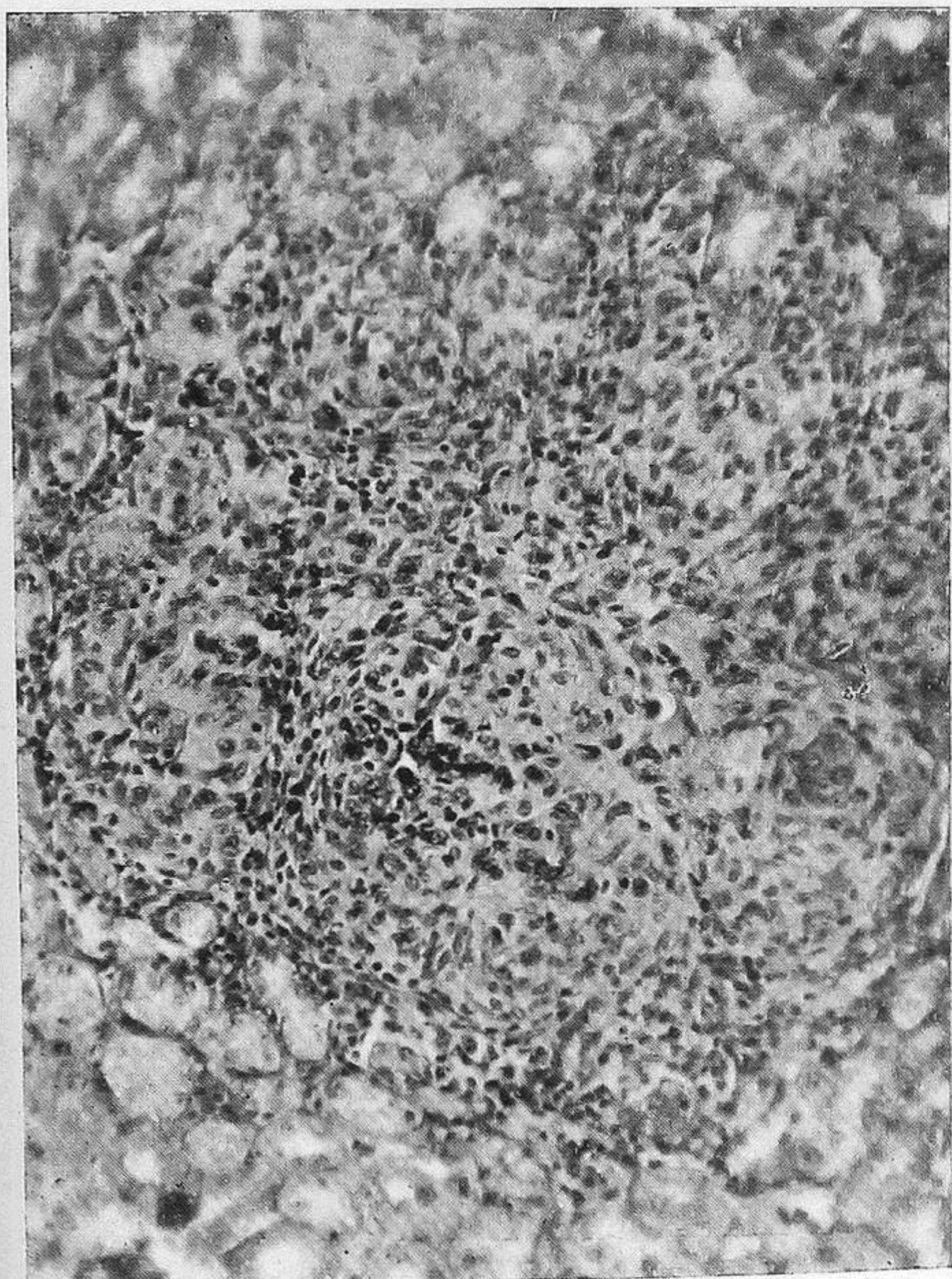
Fig. 3.

Fig. 4.

Fig 1.

Fig. 2.

Fig. 4.

Fig. 3.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 6.

Fig. 5.

Fig. 2.

Fig. 1.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.

Fig. 1.

Fig. 2.

Fig. 3.

Fig. 4.

Fig. 5.